

**Estrés por golpe de calor en maíz: Diferencias en las respuestas
ecofisiológicas entre genotipos templados y tropicales**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Juan Ignacio Rattalino Edreira
Ingeniero Agrónomo
Universidad Nacional de La Pampa
2007

Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura
(IFEVA)



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

María Elena Otegui

Ing. Agr. (Universidad de Buenos Aires)
M. Sc. (Universidad Nacional de Mar del Plata)
Dra. (Universidad París XI-Orsay, Francia)

Co-director

Gustavo Ángel Maddonni

Ing. Agr. (Universidad de Buenos Aires)
M. Sc. (Universidad de Buenos Aires)
Dr. (Universidad de Buenos Aires)

Consejero de estudios

José Alfredo Curá

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Mar del Plata)
Dr. (Universidad Nacional de Mar del Plata)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

María Elena Otegui

Ing. Agr. (Universidad de Buenos Aires)
M. Sc. (Universidad Nacional de Mar del Plata)
Dra. (Universidad París XI-Orsay, Francia)

JURADO

David J. Connor

DAgrSc (University of Melbourne)
PhD (University of Melbourne)

JURADO

Edmundo L. Ploschuk

Ing. Agr. (Universidad de Buenos Aires)
M. Sc. (Universidad de Buenos Aires)
Dr (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Roxana Savin

Ing. Agr. (Universidad de Buenos Aires)
M. Sc. (Universidad de Buenos Aires)
Ph.D. (Universidad de Melbourne)

Fecha de defensa de la tesis: 21 de febrero de 2013

DEDICATORIA

A mis padres, Mary y Juan Carlos

Por la perseverancia y constancia que los caracterizan.

Por el valor mostrado para salir adelante.

Porque su ejemplo es la razón para esforzarme mucho más.

A mis hermanos, María y Bauti

Por estar a mi lado cuando los necesito,

brindándome su amor, compañía y comprensión.

A mi abuelo, Domingo

Por inculcarme junto a mi padre

la pasión por el campo.

A mi novia, Agos

Por regalarme su amor y apoyo incondicional,

y sobre todo, por ser la luz de mis ojos

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis agradecimientos a todos aquellos que de alguna manera u otra hicieron posible la realización de este trabajo de tesis:

Agradecer de manera especial a María Elena Otegui. Su apoyo y confianza en mi trabajo, su rigurosidad y su capacidad para guiar mis ideas han sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador. Su visión inspiradora y gran generosidad fueron cruciales para mi crecimiento profesional y personal.

A Gustavo Maddonni por acompañarme en cada momento que necesité su ayuda. Sus buenos consejos y excelente predisposición para guiarme en aspectos académicos y personales fueron importantes para llevar adelante esta tesis.

A Luis Mayer por nuestras largas horas de análisis y discusión de resultados, por sus aportes valiosos y desinteresados, por su enorme amistad, por estar siempre de manera incondicional.

A mis queridos compañeros y amigos de la cátedra por crear un ambiente de trabajo muy estimulante y apoyarnos mutuamente en nuestra formación profesional: Ale, Belén, Beto, Carlina, Dodi, Euge, Gabi, Guille, José, Joaquín. Juan, Karina, Luis M., Magui, María, Nacho, Negro, Pato, Paula L., Ramiro, Román, Romi, Rena, Santiago y Walter.

A quienes colaboraron con las actividades de campo y de laboratorio por todo el trabajo compartido y su ayuda invaluable: Ale, Clemie, Dami, Emine, Joaquín, Juan Fuentes, Lara, Lean, Lucas, Luis M., Luis Ercun, Martín, Maxime, Paula A., Romi y Silvina.

A las secretarias y personal de maestranza del pabellón de biología y la Escuela para graduados por solucionarme más de una cuestión administrativa con la mejor predisposición y compartir momentos muy gratos en charlas de pasillo: Alejandra, Alicia, Amelia, Florencia, Lilianas, María Laura, Melina, Paulina, Romina y Susana.

A la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA) y el Instituto de investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura (IFEVA) por brindarme sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por otorgarme las becas de estudio y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y el Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria (FONTAGRO) por la financiación de los proyectos en los que participé como investigador.

¡Gracias a ustedes!

DECLARACIÓN

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no ha sido presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución”.

Ing. Agr. Juan Ignacio Rattalino Edreira

PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS

Trabajos científicos publicados en revistas con referato

Rattalino Edreira, J.I., Budakli Carpici, E., Sammarro, D., Otegui, M.E., 2011. Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Res.* 123, 62–73.

Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E., 2012. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Differences in crop growth, biomass partitioning and reserves use. *Field Crops Res.* 130, 87-98.

Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E., 2013. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: A novel approach for assessing sources of kernel loss in field conditions. *Field Crops Res.* 142, 58-67.

Trabajos de divulgación publicados

Rattalino Edreira, J.I., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2011. Golpe de calor y productividad en maíz: El ambiente y la genética. *Revista técnica de los productores en siembra directa. AAPRESID*, Rosario, Argentina, pp. 1-7.

Mayer, L.I., **Rattalino Edreira, J.I.**, Navarrete Sánchez, R., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2012. Efecto de las altas temperaturas en la productividad de maíz. *Revista técnica de los productores en siembra directa. AAPRESID*, Rosario, Argentina, pp. 12-18.

Trabajo científico enviado a revista con referato

Rattalino Edreira, J.I., Mayer, L.I., Otegui, M.E., 2013. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Kernel growth, water relations and assimilate availability for grain filling. *Field Crops Res.* En revisión (manuscrito FIELD-D-13-00102).

Contribuciones en congresos y reuniones científicas

Rattalino Juan I., María E. Otegui, Gustavo A. Maddonni., 2008. Efecto del estrés térmico en diferentes etapas del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) sobre los componentes del rendimiento. XIII Reunión Latinoamericana – XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. 21-24 Septiembre, 2008. Rosario, Argentina, Póster 272.

Cicchino, M., **Rattalino, J.I.**, Otegui, M.E., Uribe Larrea, M., 2008. Heat Stress in Corn: Response of Grain Yield Components to Crop Growth Regulators. International Annual Meeting 2008. ASA-CSSA-SSSA. October 5-9, 2008. Houston, Texas, EEUU, Poster 721-5. Paper 44309.

Rattalino Edreira, J.I., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2009 Heat Stress in Maize: Response of Grain Yield Components in Hybrids of Contrasting Genetic Background. International Annual Meeting 2009. ASA-CSSA-SSSA. November 1-5, 2009. Pittsburgh, Pensilvania, EEUU. Poster 62-1. Paper 716.

Sammarro, D.G., **Rattalino Edreira, J.I.**, Budakli Carpici, E., Otegui, M.E., 2010. Estrés por altas temperaturas en maíz: efectos sobre la fijación de granos en híbridos templados y tropicales. XXVIII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. 26-29 Septiembre, 2010. La Plata, Argentina.

Rattalino Edreira, J.I., Budakli Carpici, E., Sammarro, D., Otegui, M.E., 2010. Kernel Set of Temperate and Tropical Maize Hybrids Expose to Heat Stress around Flowering. Annual Meeting 2010. ASA-CSSA-SSSA. November 1-4, 2010. Long Beach, California, USA. Abstract 60633.

Sammarro, D.G., **Rattalino Edreira, J.I.**, Budakli Carpici, E., Otegui, M.E., 2010. Fijación de granos en híbridos de maíz templados y tropicales sometidos a estrés térmico alrededor de floración. IX Congreso Nacional de Maíz. Simposio Nacional de Sorgo. 16-19 Noviembre, 2010. Rosario, Argentina. Actas del Congreso pp. 138

Rattalino Edreira, J.I., Otegui M.E. 2010. Determinación del rendimiento en híbridos de maíz templados y tropicales sometidos a estrés térmico. IX Congreso Nacional de Maíz. Simposio Nacional de Sorgo. 16-19 Noviembre, 2010. Rosario, Argentina. Actas del Congreso pp. 123

Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E. 2012 Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Kernel weight determination. VI International Crop Science Congress. August 6-10, 2012. Bento Gonçalves, RS, Brasil.

Rattalino Edreira, J.I., Maddonni, G.A., Otegui, M.A. 2012. Estrés por golpe de calor en maíz: Diferencias entre híbridos templados y tropicales en la producción de biomasa y el rendimiento en grano. XXIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. 17-20 Septiembre, 2012. Mar del Plata. Argentina.

ÍNDICE GENERAL

| Contenido | Página |
|---|--------------|
| ÍNDICE DE CUADROS | XVII |
| ÍNDICE DE FIGURAS | XIX |
| ÍNDICE DE ECUACIONES | XXV |
| ABREVIATURAS | XXVII |
| RESUMEN | XXIX |
| ABSTRACT | XXXI |
| CAPÍTULO 1 | 1 |
| Introducción general | |
| 1.1. Perspectiva climática mundial y su implicancia en la producción de alimentos | 2 |
| 1.2. Efecto del golpe de calor sobre la producción de biomasa y el rendimiento en grano | 2 |
| 1.2.1. Determinación del número de granos en condiciones de golpe de calor | 4 |
| 1.2.1.1. Efectos indirectos del golpe de calor | 4 |
| 1.2.1.2. Efectos directos del golpe de calor sobre los eventos reproductivos | 5 |
| 1.2.2. Determinación del peso de grano en condiciones de golpe de calor | 6 |
| 1.3. Estrategias de producción para ambientes con elevado riesgo de estrés por golpe de calor | 8 |
| 1.3.1. Estrategia de escape al golpe de calor | 9 |
| 1.3.2. Estrategia de tolerancia al golpe de calor | 10 |
| 1.4. Objetivos | 11 |
| 1.4.1. Objetivo general | 11 |
| 1.4.2. Objetivos específicos | 11 |
| 1.5. Hipótesis | 12 |
| 1.6. Experimentos realizados para cumplir con los objetivos y estructura de la tesis | 13 |
| CAPÍTULO 2 | 15 |
| Diseño experimental, tratamientos y generación del golpe de calor | |
| 2.1. Diseño experimental y tratamientos | 16 |
| 2.1.1. Generación del golpe de calor | 16 |
| 2.1.2. Momentos de incidencia del golpe de calor | 17 |
| 2.1.3. Genotipos | 17 |
| 2.2. Condiciones de cultivo | 17 |
| CAPÍTULO 3 | 19 |
| Golpe de calor en híbridos de maíz de fondo genético contrastante: Diferencias en el crecimiento, partición de biomasa y uso de reservas | |
| 3.1. Introducción | 20 |
| 3.2. Materiales y métodos | 20 |
| 3.2.1. Mediciones y cálculos | 20 |
| 3.2.2. Análisis estadístico | 22 |
| 3.3. Resultados | 23 |
| 3.3.1. Condiciones de crecimiento y características del golpe de calor | 23 |
| 3.3.2. Área foliar e intercepción de radiación | 26 |
| 3.3.3. Producción de biomasa y eficiencia en el uso de la radiación | 28 |
| 3.3.4. Rendimiento en grano e índice de cosecha | 30 |
| 3.4. Discusión | 34 |
| 3.5. Conclusiones | 37 |
| CAPÍTULO 4 | 39 |
| Golpe de calor en híbridos de maíz templados y tropicales: Una aproximación novedosa para estudiar las causas de pérdida de granos en condiciones de cultivo | |
| 4.1. Introducción | 40 |
| 4.2. Materiales y métodos | 41 |
| 4.2.1. Mediciones y cálculos | 41 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.1.1. Tasa de crecimiento de planta y espiga, índice de partición de biomasa a espiga y número de granos | 41 |
| 4.2.1.2. Fuentes de variación del número de granos | 41 |
| 4.2.2. Análisis estadístico | 42 |
| 4.3. Resultados | 44 |
| 4.3.1. Tasa de crecimiento de planta y espiga durante el período crítico y partición de biomasa a espiga | 44 |
| 4.3.2. Respuesta promedio del número de granos a cambios en tasa de crecimiento de planta y espiga durante el período crítico | 46 |
| 4.3.3. Respuesta potencial del número de granos a cambios en las tasas de crecimiento de planta y espiga durante el período crítico | 46 |
| 4.3.4. Número de granos potencial y fuentes de variación del número de granos | 46 |
| 4.4. Discusión | 51 |
| 4.5. Conclusiones | 53 |
| CAPÍTULO 5 | 55 |
| Efecto del golpe de calor alrededor de floración sobre la fijación de granos de híbridos de maíz de origen templado y tropical | |
| 5.1. Introducción | 56 |
| 5.2. Materiales y métodos | 56 |
| 5.2.1. Mediciones y cálculos | 56 |
| 5.2.1.1. Dinámica de floración y emergencia de estigmas | 56 |
| 5.2.1.2. Fuentes de pérdida del número de granos por espiga | 57 |
| 5.2.2. Análisis estadístico | 58 |
| 5.3. Resultados | 58 |
| 5.3.1. Dinámicas de floración | 58 |
| 5.3.2. Número de flores potencial y dinámica de emergencia de estigmas | 59 |
| 5.3.3. Prolificidad y número final de granos | 63 |
| 5.3.4. Fijación de granos | 63 |
| 5.4. Discusión | 65 |
| 5.4.1. Dinámicas de floración | 65 |
| 5.4.2. Número de flores, exposición de estigmas y fijación de granos | 67 |
| 5.5. Conclusiones | 70 |
| CAPÍTULO 6 | 71 |
| Golpe de calor en híbridos de maíz templados y tropicales: Crecimiento del grano, contenido hídrico y disponibilidad de asimilados para el llenado de grano | |
| 6.1. Introducción | 72 |
| 6.2. Materiales y métodos | 72 |
| 6.2.1. Mediciones y cálculos | 72 |
| 6.2.1.1. Relación fuente-destino y peso de grano a madurez fisiológica | 72 |
| 6.2.1.2. Dinámica de acumulación de biomasa y contenido hídrico del grano | 73 |
| 6.2.1.3. Carbohidratos solubles en agua acumulados en el tallo | 75 |
| 6.2.2. Análisis estadístico | 75 |
| 6.3. Resultados | 76 |
| 6.3.1. Peso de grano final y llenado de granos | 76 |
| 6.3.2. Relaciones hídricas y volumen del grano | 76 |
| 6.3.3. Relación fuente-destino y peso de grano | 80 |
| 6.3.4. Carbohidratos solubles en agua acumulados en el tallo | 81 |
| 6.4. Discusión | 83 |
| 6.5. Conclusiones | 87 |
| CAPÍTULO 7 | 89 |
| Consideraciones finales | |
| 7.1. Introducción | 90 |
| 7.2. Aportes originales al conocimiento científico | 92 |
| 7.3. Implicancias para investigaciones futuras | 96 |
| 7.3.1. Evaluar la respuesta del cultivo de maíz frente a la incidencia de golpes de calor de distintas intensidad, duración y tasa de incremento térmico. | 97 |

| | |
|---|------------|
| 7.3.2. Bases genéticas de la tolerancia al golpe de calor | 97 |
| 7.3.3. El rol de los carbohidratos de reserva en la tolerancia al golpe de calor: Compromiso entre estabilidad y potencialidad de rendimiento. | 98 |
| 7.3.4. Re-analizar las bases fisiológicas de la determinación del número de granos por planta que explican el incremento en la tolerancia a estreses abióticos generado por el mejoramiento genético. | 99 |
| BIBLIOGRAFÍA | 103 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Contenido | Página |
|---|--------|
| Cuadro 3.1. Fechas de siembra, duración de etapas y radiación fotosintéticamente activa incidente (RFA). | 24 |
| Cuadro 3.2. Características del golpe de calor en ambos experimentos. | 25 |
| Cuadro 3.3. Índice de área foliar (IAF) y fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada por el cultivo ($fRFA_i$) en diferentes momentos del ciclo. | 27 |
| Cuadro 3.4. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y eficiencia en el uso de la radiación (EUR) en distintas etapas del ciclo. | 29 |
| Cuadro 3.5. Biomasa aérea final, rendimiento en grano (RGC) e índice de cosecha (IC) del cultivo. | 31 |
| Cuadro 4.1. Tasa de crecimiento de planta (TCP_{PC}) y espiga (TCE_{PC}) durante el período crítico para la fijación de granos e índice de partición de biomasa a espiga (IP). | 44 |
| Cuadro 4.2. Parámetros de los modelos curvilineales ajustados a la respuesta del número de granos por planta potencialmente alcanzable (NGPP) y finalmente alcanzado a madurez fisiológica (NGP) a cambios en la tasa de crecimiento de planta (TCP_{PC}) y espiga (TCE_{PC}) durante el período crítico para la fijación de granos. | 48 |
| Cuadro 4.3. Número de granos por planta potencialmente alcanzable ($NGPP_n$) y finalmente alcanzado (NGP), y fuentes de variación del NGP (ΔNGP_n). | 49 |
| Cuadro 5.1. Parámetros que caracterizan la dinámica de antesis y <i>silking</i> y duración del intervalo antesis- <i>silking</i> de la población de plantas (IAS_{PP}). | 60 |
| Cuadro 5.2. Determinantes del número final de granos en la espiga principal (NGE), fijación de granos en dicha espiga (FGE_n) y pérdida de granos. | 61 |
| Cuadro 5.3. Fuentes de pérdida entre el número de granos potencial y el logrado. | 62 |
| Cuadro 6.1. Número de granos por planta (NGP), peso de grano (PG), tasa (T_{LEG}) y duración (D_{LEG}) del llenado efectivo, contenido de agua del grano (CAG), concentración de humedad del grano a madurez fisiológica (CHG_{R6}), máximo volumen de grano (VG) y relaciones fuente-destino (F/D_n). | 77 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Contenido | Página |
|--|--------|
| 1 | |
| Figura 1.1. Etapas de desarrollo de meristemas reproductivos masculinos y femeninos desde la diferenciación floral hasta la fijación de granos. Las flechas vacías indican los procesos involucrados en el pasaje a la siguiente etapa. | 5 |
| Figura 1.2. Mapa de distribución de la probabilidad de ocurrencia de eventos de golpes de calor (días con temperaturas máximas superiores a 35 °C) en la región centro-norte de la República Argentina para el primer decenio de los meses comprendidos entre octubre y marzo (Rattalino Edreira et al., 2011). | 9 |
| Figura 2.1. (a) Mini-invernáculo, (b) sistema de calentamiento con controlador de temperatura, y (c) tratamientos de régimen térmico aplicados alrededor de una misma fecha calendario. | 17 |
| Figura 3.1. Radiación fotosintéticamente activa incidente (línea gris) y temperatura media del aire (línea negra) durante el ciclo del cultivo (a: Exp ₁ y b: Exp ₂) y evolución de la temperatura horaria del aire a la altura de la espiga promedio entre tratamientos control (línea llena) y de estrés (línea punteada) desde la fecha en que se instaló el primer calentamiento hasta la fecha de remoción del último calentamiento instalado (c: Exp ₁ y d: Exp ₂). En (a) y (b), las barras horizontales indican el tiempo comprendido entre emergencia y madurez fisiológica y el período de calentamiento (M _n , promedio entre genotipos). | 23 |
| Figura 3.2. Temperatura de órganos en los tratamientos control (símbolos llenos) y de estrés (símbolos vacíos) durante dos años experimentales (Exp ₁ : círculos; Exp ₂ : cuadrados). Cada símbolo corresponde al promedio de 27 datos (tres momentos, tres híbridos y tres repeticiones). Las barras horizontales representan el intervalo de confianza del 95%. La temperatura del aire a la altura de la espiga en los tratamientos de estrés durante el momento de medición fue de 39.1 °C en el Exp ₁ y 36.6 °C en el Exp ₂ . La altura de la planta representa el promedio de todas las combinaciones de tratamiento. | 26 |
| Figura 3.3. Relación entre la producción de biomasa aérea y la radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada desde V ₁₅ hasta madurez fisiológica en híbridos de maíz de fondo genético contrastante sometidos a dos regímenes térmicos (T _C : control; T _E : golpe de calor) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M ₁ : a-c; M ₂ : d-f; M ₃ : g-i) y dos años experimentales (Exp _n). Las barras de error indican el desvío estándar de la media y las horizontales representan el período de calentamiento. | 32 |

Figura 3.4. Relación entre el rendimiento en grano del cultivo (RGC) y (a) la biomasa aérea final (BF), o (b) el índice de cosecha (IC). Los datos corresponden a tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado, Tr: tropical; TeTr: Te × Tr) sometidos a dos regímenes térmicos (T_C: control, T_E: golpe de calor) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M₁: 1, M₂: 2; M₃: 3) y dos años experimentales. Las líneas en la figura (a) representan la relación 0.25:1 y 0.5:1 entre el rendimiento y la biomasa final. Las ecuaciones representan modelos ajustados a cada régimen térmico. 33

Figura 3.5. Relación entre (a) rendimiento en grano y crecimiento del cultivo durante el llenado efectivo de granos, y (b) índice de cosecha (IC) y uso aparente de reservas (UAR). Símbolos como en la figura 3.4. La ecuación y la línea llena en la figura (b) representan el modelo ajustado a todo el conjunto de datos. 34

Figura 4.1. Representación esquemática de la respuesta media (líneas llenas) y potencial (líneas punteadas) del NGP a variaciones en la TCP_{PC} (líneas negras) y en la TCE_{PC} (líneas grises) en parcelas (a) control y (b) calentadas. Los símbolos representan valores de NGP observados y calculados para cualquier planta del *stand*. Para cada planta se registró el NGP alcanzado a madurez fisiológica (NGP) y se calcularon dos valores de NGP potencial (NGPP) según la TCP_{PC} (NGPP_{TCP}) y la TCE_{PC} (NGPP_{TCE}) registradas para cada planta. Las flechas indican la TCP_{PC} (flecha negra) y la TCE_{PC} (flecha gris) observadas en plantas control (flechas llenas) y calentadas (flechas vacías). Los parámetros obtenidos a través del ajuste de un modelo curvilíneo mediante el análisis de regresión por cuantiles fueron utilizados para calcular los mencionados valores teóricos (i.e., NGPP_{TCP} y NGPP_{TCE}). La brecha entre NGPP_{TCP} y NGP fue atribuible a tres fuentes de Δ NGP, las cuales fueron relacionadas a cambios en la TCP_{PC} (Δ NGP₁ = 0 para parcelas control y Δ NGP₁ = NGPP_{TCP} T_E - NGPP_{TCP} T_C para parcelas de estrés), a cambios en la partición de biomasa a espiga (Δ NGP₂ = NGPP_{TCE} - NGPP_{TCP}) y a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga (Δ NGP₃ = NGP - NGPP_{TCE}). 43

Figura 4.2. Relación entre la tasa de crecimiento de espiga (TCE_{PC}) y la tasa de crecimiento de planta (TCP_{PC}) durante el período crítico para la fijación de granos en los híbridos (a) templado, (b) templado × tropical, y (c) tropical sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) alrededor de floración. Cada símbolo representa la media de nueve plantas dentro de cada repetición y año experimental. Las líneas punteadas representan la relación 0.125:1 y 0.25:1 entre dichas variables. 45

Figura 4.3. Respuesta del número de granos por planta a la tasa de crecimiento de planta (a, c y e) y espiga (b, d y f) durante el período crítico para la fijación de granos en los híbridos templado (a y b), templado × tropical (c y d), y tropical (e y f) sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) alrededor de floración. Los símbolos representan valores obtenidos de plantas individuales y las líneas indican los modelos ajustados al límite superior [líneas punteadas; ecuación (4.2)] o al centro [líneas llenas; ecuación (4.1)] de la distribución de datos. Los parámetros que describen cada relación se detallan en el cuadro 4.2. 47

Figura 4.4. Relación entre la variación en el número de granos por planta atribuida a cambios en la partición de biomasa a espiga (ΔNGP_2) y el índice de partición de biomasa a espiga (IP). Los datos corresponden a tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado, Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr) sometidos a dos regímenes térmicos (T_C : control; T_E : golpe de calor) alrededor de floración durante dos años experimentales. 50

Figura 5.1. Dinámica de exposición de estigmas de la espiga principal de plantas representativas de un *stand* que alcanzaran *silking* en fechas tempranas (líneas llenas), intermedias (líneas segmentadas) y tardías (línea punteadas). Dichas plantas corresponden a híbridos de maíz de origen templado (a y b), templado \times tropical (c y d) y tropical (e y f) sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; estrés por golpe de calor: símbolos vacíos) durante los quince días previos (a, c, e) y posteriores (b, d, f) a floración en el experimento 2. Los datos están expresados como la proporción del máximo número de estigmas registrado en cada combinación de M \times H. La fecha en la que se registró la exposición del primer estigma por fuera de las chalas de cualquier individuo del *stand* corresponde al día 1. Las barras verticales representan el error estándar de la media. 64

Figura 5.2. Respuesta del número de granos en la espiga principal a tres fuentes de pérdida que se producen entre el número de granos potencial y el alcanzado. La Pérdida 1 representa caídas atribuibles a reducciones en el número de flores desarrolladas por espiga (a). La Pérdida 2 corresponde a fallas de polinización debido a fallas en la emisión de estigmas (b). La Pérdida 3 identifica caídas asociadas al aborto de ovarios fecundados (c). Los datos corresponden a híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado, Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr) sometidos a dos regímenes térmicos (T_C : control, T_E : golpe de calor) durante los quince días previos (M_1 : 1) y posteriores (M_2 : 2) a floración en el experimento 2. Las líneas representan las funciones lineales ajustadas. En (b) $\text{NGE} = 875 - 2254 \text{ Pérdida } 2$, $r^2 = 0.69$, $P < 0.05$ (línea llena para M_1); $\text{NGE} = 479 - 1198 \text{ Pérdida } 2$, $r^2 = 0.88$, $P < 0.01$ (línea punteada para M_2). En (c) $\text{NGE} = 521 - 531 \text{ Pérdida } 1$, $r^2 = 0.95$, $P < 0.001$. 65

Figura 5.3. Relación entre distintas causas de pérdida de granos evaluadas a nivel de espiga (Pérdidas 1, 2 y 3) y distintas fuentes de variación del número de granos asociadas a la disponibilidad de asimilados en la espiga (ΔNGP_1 y ΔNGP_2 ; figuras a, c, e), y fallas en eventos reproductivos (ΔNGP_3 ; figuras b, d, f). Símbolos como en la figura 5.2. Las ecuaciones y líneas llenas representan el modelo ajustado a todo el conjunto de datos, exceptuando al valor indicado con asterisco en la figura f. 69

Figura 6.1. Dinámica de peso seco (a-c), contenido de agua (d-f), concentración de humedad (g-i) y volumen (j-l) del grano en tres híbridos de maíz de fondo genético templado (círculos), templado \times tropical (triángulos) y tropical (cuadrado) sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) durante la primera mitad del llenado efectivo de grano (M_3) en dos años experimentales. Las flechas indican el momento de madurez fisiológica de cada condición. 78

Figura 6.2. Relación entre el peso de grano y la relación fuente-destino durante (a) el período crítico, y (b) el llenado efectivo del grano. Los datos corresponden a tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr) expuestos a dos regímenes térmicos (TC: control; TE: golpe de calor) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M_1 : 1, M_2 : 2, M_3 : 3) y dos años experimentales. En (a), la línea llena representa el modelo lineal ajustado a los tratamientos control. En (b), la línea punteada representa la relación 1:1 y la línea llena el modelo bilineal (6.1-6.2) ajustado a los tratamientos de estrés. 81

Figura 6.3. Evolución del contenido de carbohidratos solubles en el tallo de plantas de tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M_1 : a-c; M_2 : d-f; M_3 : g-i) en el experimento 2. Las flechas señalan la fecha de madurez fisiológica. Las barras verticales indican el desvío estándar de la media y las horizontales representan el período de calentamiento. Los asteriscos indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos de régimen térmico. 82

Figura 6.4. Relación entre el contenido de carbohidratos solubles en agua acumulados en el tallo a madurez fisiológica y la relación fuente-destino durante el llenado efectivo de grano. Símbolos como en la figura 6.2. Los datos corresponden a plantas individuales. La línea llena corresponde al modelo bilineal con *plateau* (6.8 - 6.9) ajustado a todo el conjunto de datos. 83

Figura 6.5. Relación entre cambios en el peso de grano y cambios en la disponibilidad de asimilados durante el período de llenado (expresados en términos relativos al control) de tres híbridos de maíz de fondo genético templado (círculos), templado \times tropical (triángulos) y tropical (cuadrado) sometidos a golpe de calor durante tres momentos del ciclo del cultivo (M_1 : 1, M_2 : 2; M_3 : 3) y durante dos años experimentales. Las líneas de puntos representan limitaciones teóricas impuestas de manera absoluta por fuente (línea 1:1) o destino (línea horizontal) de asimilados durante el llenado de granos. Las líneas llenas indican la respuesta máxima, mínima y media del peso de grano ante cambios en la disponibilidad de asimilados durante el período de llenado según las estimaciones realizadas por Borrás et al. (2004). 85

Figura 6.6. Relación entre la variación en el contenido de carbohidratos solubles en agua del tallo durante el llenado efectivo de granos (Δ CCSA) y el uso aparente de reservas (UAR) en el experimento 2. Símbolos como en la figura 6.2. La ecuación y la línea llena representan el modelo ajustado a todo el conjunto de datos. 87

- Figura 7.1.** Diagrama conceptual describiendo la conexión entre determinantes fisiológicos y numéricos del rendimiento en grano de maíz. Las flechas llenas representan relaciones entre variables y las vacías indican variables o procesos que regulan dichas relaciones. Los símbolos coloreados debajo de las cajas indican el efecto del golpe de calor (variación respecto al tratamiento control, promediando experimentos) sobre distintas etapas del ciclo del cultivo (M₁: durante los quince días previos a antesis; M₂: durante quince días a partir de inicio de *silking*; M₃: durante quince días a partir del inicio del llenado activo de granos) y genotipos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te × Tr). 93
- Figura 7.2.** Rendimiento en grano (líneas llenas) y reserva de asimilados en tallo (líneas segmentadas) esperados para dos genotipos de maíz con baja (líneas negras) y alta (líneas grises) capacidad de reservas de asimilados en el tallo a lo largo de un gradiente de condiciones de golpe de calor durante el llenado de granos. 99
- Figura 7.3.** Representación esquemática de los cambios introducidos por el mejoramiento genético (flechas punteadas) en la respuesta del número de granos por planta a variaciones de la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (líneas llenas). 101
- Figura 7.4.** Relación entre el número de granos por planta y la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico de dos híbridos de maíz de distinta época de liberación al mercado. La respuesta del número de granos por planta a cambios en tasa de crecimiento de la planta difiere entre genotipos cuando el modelo es ajustado al centro de la distribución de datos (líneas llenas), pero no lo hace cuando se ajusta al límite superior (líneas punteadas). Adaptado de Echarte et al. (2004). 101

ÍNDICE DE ECUACIONES

| Ecuación | Página |
|--|--------|
| (1.1) $RGC = RFA \times fRFAi \times EUR \times n \times IC$ | |
| (3.1) $TAE = \sum_{i=1}^N (Tx - To)$ para $Tx > To$ | 3 |
| (3.2) $fRFAi = 1 - \left(\frac{RFA_{BC}}{RFA_{TC}} \right)$ | 20 |
| (4.1) $NGP = a_{media} \left\{ 1 - \exp \left[\frac{-(x - c_{media})}{b_{media}} \right] \right\}$ | 21 |
| (4.2) $NGPP = a_{potencial} \left\{ 1 - \exp \left[\frac{-(x - c_{potencial})}{b_{potencial}} \right] \right\}$ | 41 |
| (4.3) $\Delta NGP_1 T_E = NGPP_{TCP} T_E - NGPP_{TCP} T_C$ | 41 |
| (4.4) $\Delta NGP_2 = NGPP_{TCE} - NGPP_{TCP}$ | 42 |
| (4.5) $\Delta NGP_3 = NGP - NGPP_{TCE}$ | 42 |
| (5.1) $Prop = \frac{a}{1 + \exp [-(x-b)/c]}$ | 42 |
| (6.1) $PG = a + b F/D_{LEG}$ para $F/D_{LEG} \leq c$ | 56 |
| (6.2) $PG = a + b c$ para $F/D_{LEG} > c$ | 73 |
| (6.3) $CAG = d + e DDS$ para $DDS \leq f$ | 73 |
| (6.4) $CAG = d + e f + g (DDS - f)$ para $DDS > f$ | 74 |
| (6.5) $PG = T_{Lag} DDS$ para $DDS \leq D_{Lag}$ | 74 |
| (6.6) $PG = T_{Lag} D_{Lag} + T_{LEG} (DDS - D_{Lag})$ para $D_{LG} \geq DDS$ | 74 |
| (6.7) $PG = T_{Lag} D_{Lag} + T_{LEG} (D_{LG} - D_{Lag})$ para $DDS > D_{LG}$ | 74 |
| (6.8) $CCSA = h + i F/D_{LEG}$ para $F/D_{LEG} \leq j$ | 75 |
| (6.9) $CCSA = h + i j$ para $F/D_{LEG} > j$ | 75 |

ABREVIATURAS

Abreviatura Significado

| | |
|---------------------------|--|
| Δ NGP | Variación del NGP |
| Δ NGP ₁ | Δ NGP debido a cambios en TCP _{PC} |
| Δ NGP ₂ | Δ NGP debido a cambios en la partición de biomasa a espiga |
| Δ NGP ₃ | Δ NGP debido a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga |
| CCSA | Contenido de carbohidratos soluble en agua |
| CAG | Contenido de agua del grano |
| CC _{LEG} | Crecimiento del cultivo durante LEG |
| CHG | Concentración de humedad del grano |
| DDS | Días desde <i>silking</i> |
| D _{LEG} | Duración del llenado efectivo de granos |
| D _{LG} | Duración del llenado de granos |
| D _{Lag} | Duración de la fase inicial del llenado de grano, previa al LEG |
| EGC | Efecto del golpe de calor |
| EGC ₁ | EGC sobre Δ NGP ₁ |
| EGC ₂ | EGC sobre Δ NGP ₂ |
| EGC ₃ | EGC sobre Δ NGP ₃ |
| EUR | Eficiencia en el uso de la radiación |
| EUR _{LEG} | EUR durante LEG |
| EUR _{POST} | EUR durante POST |
| EUR _{PRE} | EUR durante PRE |
| Exp _n | Experimento <i>n</i> |
| F/D | Relación fuente-destino |
| F/D _{PC} | F/D durante el PC |
| F/D _{LEG} | F/D durante el LEG |
| FGE | Fijación de granos en la espiga principal |
| FGE ₁ | NGE NTFE ⁻¹ |
| FGE ₂ | NGE NTEE ⁻¹ |
| fRFAi | Fracción de RFA interceptada por el cultivo |
| fRFAi _{LEG} | fRFAi durante LEG |
| fRFAi _{POST} | fRFAi durante POST |
| fRFAi _{PRE} | fRFAi durante PRE |
| H | Híbrido |
| IAF | Índice de área foliar |
| IAF _{R1} | IAF en R ₁ |
| IAF _{R6} | IAF en R ₆ |
| IAS _{PP} | Intervalo antes- <i>silking</i> de la población de plantas |
| IC | Índice de cosecha |
| IP | Índice de partición de biomasa a espiga |
| Lag | Fase inicial del llenado de grano (período comprendido entre fecundación del ovario y ca. R ₂) |
| LEG | Llenado efectivo del grano (período comprendido entre ca. R ₂ y R ₆) |
| M | Momento de incidencia de los regímenes térmicos |
| M ₁ | M durante los quince días previos a antesis |
| M ₂ | M durante quince a partir de <i>silking</i> |
| M ₃ | M durante quince días a partir del inicio del llenado activo de granos |

XXVIII

| | |
|----------------------|--|
| NGE | Número de granos en la espiga principal |
| NGP | Número de granos por planta |
| NGPP | NGP potencial |
| NGPP _{TCP} | NGPP calculado a partir de TCP _{PC} |
| NGPP _{TCE} | NGPP calculado a partir de TCE _{PC} |
| NTEE | Número total de estigmas expuestos en la espiga principal |
| NTFE | Número total de flores desarrolladas en la espiga principal |
| PC | Período crítico para la fijación de granos |
| PG | Peso de granos |
| POST | Período comprendido entre R ₁ y R ₂ |
| PRE | Período comprendido entre V ₁₅ y R ₁ |
| R ₁ | Floración femenina |
| R ₂ | Quince días postfloración femenina |
| R ₆ | Madurez fisiológica |
| RFA | Radiación fotosintéticamente activa incidente |
| RFA ₀ | RFA al tope del canopeo y fuera de los mini-invernáculos |
| RFA _{BC} | RFA debajo del estrato de hojas verdes |
| RFAi | RFA interceptada por el cultivo |
| RFAi _{LEG} | RFAi durante LEG |
| RFAi _{POST} | RFAi durante POST |
| RFAi _{PRE} | RFAi durante PRE |
| RFA _{LEG} | RFA durante LEG |
| RFA _{POST} | RFA durante POST |
| RFA _{PRE} | RFA durante PRE |
| RFA _{TC} | RFA al tope del canopeo y adentro de los mini-invernáculos |
| RGC | Rendimiento en grano del cultivo |
| RT | Régimen térmico |
| TAE | Temperatura acumulada de estrés |
| T _C | Tratamiento control |
| TCC | Tasa de crecimiento del cultivo |
| TCC _{LEG} | TCC durante LEG |
| TCC _{POST} | TCC durante POST |
| TCC _{PRE} | TCC durante PRE |
| TCE _{PC} | Tasa de crecimiento de la espiga durante PC |
| TCP _{PC} | Tasa de crecimiento de la planta durante PC |
| T _E | Tratamiento de estrés por golpe de calor |
| Te | Híbrido templado |
| TeTr | Híbrido templado × tropical |
| T _{Lag} | Tasa de crecimiento del grano durante la fase <i>Lag</i> de llenado de grano |
| T _{LEG} | Tasa de crecimiento del grano durante LEG |
| Tmax | Temperatura máxima promedio del aire a la altura de la espiga |
| To | Temperatura óptima |
| Tr | Híbrido tropical |
| Tx | Temperatura horaria del aire a la altura de la espiga |
| UAR | Uso aparente de reservas |
| VG | Volumen del grano |
| V _n | Estadio de <i>n</i> hojas liguladas |

RESUMEN

Estrés por golpe de calor en maíz: Diferencias en las respuestas ecofisiológicas entre genotipos templados y tropicales

El golpe de calor afecta el rendimiento de maíz al influir negativamente sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Existe escasa información sobre las bases ecofisiológicas de la respuesta a este estrés, y ninguna referida a diferencias genotípicas en la tolerancia a las temperaturas supraóptimas en condiciones de cultivo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del golpe de calor en distintos momentos del ciclo de maíz sobre los determinantes ecofisiológicos [radiación interceptada, eficiencia en el uso de la radiación (EUR), índice de cosecha] y numéricos [número de granos por planta (NGP), peso de granos (PG)] del rendimiento en tres híbridos de fondo genético contrastante (templado, tropical, y templado \times tropical) creciendo a campo. El golpe de calor provocó reducciones severas de rendimiento, especialmente cuando ocurrió alrededor de floración y sobre el híbrido templado. Las pérdidas de rendimiento estuvieron principalmente asociadas a caídas en índice de cosecha, y en menor medida a reducciones en la producción de biomasa. Esta última fue mayormente afectada por caídas en la EUR. Golpes de calor alrededor de floración causaron fuertes pérdidas del NGP, atribuibles a incrementos en el aborto de grano, y no a problemas en el desarrollo de flores femeninas o emisión de estigmas. Se desarrolló una nueva aproximación para identificar las causas subyacentes a la caída del NGP, cuya aplicación permitió dilucidar que bajo condiciones de golpe de calor (i) el aborto de granos estuvo altamente correlacionado con la disponibilidad de asimilados en la espiga, y (ii) las diferencias genotípicas en el NGP se debieron a efectos directos del estrés sobre el cuaje de granos. Las caídas del NGP incrementaron la disponibilidad de asimilados por grano alrededor de floración y durante el llenado efectivo de granos, sin embargo se observaron caídas en el PG atribuidas a efectos directos del estrés sobre el PG potencial. Por su parte, golpes de calor durante la primer mitad del llenado efectivo de granos redujeron la disponibilidad de asimilados por grano, determinando interrupciones en el llenado de granos. Esta respuesta fue acompañada de un mayor uso de asimilados de reservas e incrementos en la pérdida de agua del grano. Se encontraron diferencias genotípicas en la respuesta al estrés para la mayoría de los rasgos analizados, siendo el híbrido templado el genotipo con mayor sensibilidad al golpe de calor.

Palabras clave: Maíz, *Zea mays* L., golpe de calor, híbridos, rendimiento en grano, biomasa, número de granos, peso del grano.

ABSTRACT

Heat stress in maize: Differences in ecophysiological responses among temperate and tropical hybrids

Heat stress reduces grain yield due to its negative effect on plant growth and development. The ecophysiological bases of these responses are still poorly understood, and there is no evidence of genotypic differences in the tolerance this stress among field grown maize crops. The objective of this thesis was to evaluate (i) the effect of brief episodes of above-optimum temperature during different growth stages of the crop cycle on the ecophysiological [radiation interception, radiation use efficiency (RUE), harvest index (HI)] and numerical [kernel number per plant (KNP), kernel weight (KW)] determinants of grain yield, and (ii) differences in the response of these traits to heat stress among three maize hybrids of contrasting genetic background (temperate, tropical and temperate \times tropical). Heat stress had a severe effect on grain yield, especially when it occurred around flowering. Yield losses were associated primarily with reduced HI and, to a less extent, with reduced biomass production (due to RUE reduction). Heating around flowering caused a large reduction in KNP because it enhanced kernel abortion, but it had not effect on floret development or silk extrusion from the husks. In this thesis, a novel approach was developed for assessing sources of kernel loss in field conditions. Its application helped elucidate that under heat stress conditions (i) kernel abortion was strongly correlated with assimilates availability per ear around flowering, and (ii) genotypic differences in KNP were related to the direct effect of the stress on kernel set. Despite the positive effect of heating around flowering on the assimilate availability per kernel around flowering and during effective grain filling (EGF), above-optimum temperatures reduced KW due to its direct effects on potential KW determination. Heating during the first half of EGF reduced the assimilate availability per kernel during the whole EGF, and in extreme cases it caused the arrest of kernel growth. This response was accompanied by increases in the use of reserves from the stem and the rate of water loss from grains. There were genotypic differences in the response to heat stress of most evaluated traits, and the hybrid of full temperate genetic background was the most sensitive to above-optimum temperatures.

Keywords: Maize, *Zea mays* L., heat stress, hybrids, grain yield, biomass, kernel number, kernel weight.

Introducción general

1.1. Perspectiva climática mundial y su implicancia en la producción de alimentos

La agricultura ha sido capaz de responder a la demanda creciente de productos agropecuarios, llegando a alimentar a más de 6000 millones de personas. Sin embargo, existen aún graves problemas de déficits alimentarios a los cuales también deberá hacer frente en las próximas décadas (FAO, 2011a). En los últimos años, la demanda global de productos agropecuarios ha sufrido un constante incremento motivado por aumentos en la población mundial y el surgimiento de nuevos mercados para los productos agrícolas que pueden ser empleados como materia prima para la elaboración de biocombustibles (FAO, 2011b). La producción mundial de maíz ha sido especialmente estimulada por estos factores (FAO, 2009), posicionándose desde inicios del siglo XXI como el cultivo de grano con mayor volumen de producción (FAO, 2012). En la actualidad, la tasa de incremento de los niveles de producción de cultivos es menor que el incremento en la demanda, motivo por el cual se ha evidenciado un alza sostenida en los precios de los *commodities* agrícolas (FAO, 2011b). Si bien este hecho constituye una gran oportunidad para países como Argentina, que basan su economía en dichos productos, también evidencia una posible intensificación del déficit alimentario.

Para hacer frente al desbalance descrito, una alternativa es incorporar nuevas tierras a cultivo consideradas marginales para la producción agrícola (FAO, 2011c), incrementando los riesgos de ocurrencia de condiciones adversas durante el ciclo de crecimiento. Adicionalmente, en un futuro próximo, la agricultura deberá garantizar el abastecimiento de estas múltiples demandas en escenarios productivos cada vez más inestables, promovidos según los pronósticos por el calentamiento global. De acuerdo al cuarto informe de evaluación presentado por el Panel Intergubernamental de expertos sobre el Cambio Climático (IPCC), la temperatura media global ascenderá entre 1.1 °C y 6.4 °C a finales del siglo XXI (IPCC, 2007). La magnitud de dicho efecto dependerá de los futuros escenarios de emisión de gases de efecto invernadero y actividad económica mundial. Adicionalmente, siguiendo las tendencias recientemente observadas, se prevén incrementos en la frecuencia de temperaturas elevadas extremas y olas de calor que aumentarán la ocurrencia de episodios de estrés térmico por golpes de calor (Tebaldi et al., 2006). Este tipo de estrés constituye una de las principales fuentes de reducción de rendimiento de maíz en ambientes tropicales, y en caso de evidenciarse las predicciones ante mencionadas también lo será para cultivos que crecen en ambientes templados (Teixeira et al., 2013). Sin embargo, actualmente existen escasos estudios ecofisiológicos sobre la respuesta del cultivo de maíz a la incidencia de golpes de calor. Este hecho podría atribuirse a dificultades metodológicas para lograr una aceptable reproducción de este tipo de estrés en condiciones de campo y al bajo impacto del mismo sobre el rendimiento registrado hasta el momento en ambientes templados de alta productividad.

1.2. Efecto del golpe de calor sobre la producción de biomasa y el rendimiento en grano

El estrés por golpe de calor suele definirse como un ascenso en la temperatura máxima diaria por encima de un valor umbral y durante un período de tiempo breve y suficiente que provoca daños irreversibles en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Wahid et al., 2007). Las temperaturas supraóptimas causan inhibición de la síntesis de proteínas, agregación y desnaturalización de proteínas, y alteraciones en la

fluidez de membrana (Allakhverdiev et al., 2008) que pueden desencadenar en un repentino colapso celular (Pennell y Lamb, 1997; Fan y Xing, 2004). La magnitud de dicho efecto depende de características del estrés como su intensidad (Crafts-Brandner y Salvucci, 2000), duración (Al-Khatib y Paulsen, 1999) y tasa de incremento térmico (Crafts-Brandner y Salvucci, 2002). Adicionalmente, la sensibilidad de una planta al golpe de calor depende de características del cultivo como el grado de aclimatación al estrés debido a exposiciones previas a elevadas temperaturas (Liu y Huang, 2008; Wang et al., 2011), la sensibilidad de distintos estadios ontogénicos a las temperaturas supraóptimas (Karim et al., 1999; Vara Prasad et al., 1999; Young et al., 2001) y su nivel de termotolerancia (Commuri y Jones, 2001). La compleja relación entre dichas variables dificulta la determinación de un único valor umbral de temperatura a partir del cual un determinado proceso es inhibido. Incluso, distintos tejidos y órganos de la planta son afectados de manera diferente a una misma temperatura dependiendo de la susceptibilidad del proceso metabólico dominante en dichas estructuras. No obstante, en maíz se ha generalizado el uso de 35 °C como nivel umbral de temperatura supraóptima debido a los resultados obtenidos en diversos estudios donde se evaluó el impacto de las altas temperaturas sobre procesos de desarrollo (Tollenaar et al., 1979), crecimiento (Berry y Bjorkman, 1980; Jones et al., 1981; Crafts-Brandner y Salvucci, 2002; Sinsawat et al., 2004) y eventos reproductivos (Herrero y Johnson, 1980; Mitchell y Petolino, 1988; Dupuis y Dumas, 1990).

Las respuestas descritas al golpe de calor han sido establecidas en condiciones controladas de crecimiento. En condiciones de campo, los cultivos suelen estar expuestos a episodios de estreses abióticos (e.g. sequía, deficiencias nutricionales, temperaturas extremas) durante el ciclo, los cuales afectan su productividad dependiendo de su intensidad, duración y momento de incidencia del estrés (Loomis y Connor, 1992). La magnitud de la respuesta puede ser analizada en términos de los determinantes fisiológicos del rendimiento (Sinclair y de Wit, 1975; Gifford et al., 1984; Passioura, 1996) indicados en el siguiente modelo general [ecuación (1.1)]

$$RGC = RFA \times fRFAi \times EUR \times n \times IC \quad (1.1)$$

donde RGC es el rendimiento en grano del cultivo (en g m⁻²), RFA la radiación fotosintéticamente activa incidente diaria (en MJ m⁻² d⁻¹), fRFAi la fracción de la RFA interceptada por el cultivo, EUR la eficiencia en el uso de la radiación (en g MJ⁻¹), n la duración del período de crecimiento (en días), e IC el índice de cosecha. Generalmente, los efectos negativos de deficiencias hídricas o nitrogenadas están asociados a reducciones en la expansión de tejidos y la capacidad fotosintética (Boyer, 1970; Sadras y Milroy, 1996; Lemaire y Gastal, 2009). En cultivos anuales y determinados como maíz, las primeras prevalecen cuando las deficiencias ocurren durante preanthesis, período en el cual se define el tamaño del canopeo (NeSmith y Ritchie, 1992c; Uhart y Andrade, 1995b). La segunda, en cambio, es la respuesta predominante durante el llenado de granos, y suele ser acompañada por una acelerada senescencia foliar (Uhart y Andrade, 1995b; Earl y Davis, 2003). Contrariamente, las pérdidas de productividad debidas al golpe de calor están principalmente asociadas a una menor fijación de carbono (Berry y Bjorkman, 1980; Sinsawat et al., 2004) producto de caídas en la actividad fotosintética e incrementos en la respiración de mantenimiento (Loomis y Connor, 1992; Hay y Porter, 2006). A nivel de cultivo, la consecuencia de esta respuesta es una reducción en la eficiencia en el uso de la radiación, según ha sido reportado para trigo (Reynolds et al., 2007) y maíz (Cicchino et al., 2010b). Además de los efectos mencionados sobre la

producción de biomasa, el golpe de calor incide sobre el rendimiento en grano a través de caídas en el número y el peso individual del grano, que impactan negativamente sobre el índice de cosecha.

1.2.1. Determinación del número de granos en condiciones de golpe de calor

1.2.1.1. Efectos indirectos del golpe de calor

Los estreses abióticos pueden impactar negativamente sobre el crecimiento a lo largo de todo el ciclo del cultivo. Sin embargo, sólo una parte del mismo es crítica para la determinación del rendimiento y usualmente coincide con el período en el cual se define el número de granos (PC: período crítico). En maíz, estudios utilizando sombreos estratégicos (Fischer y Palmer, 1984; Kiniry y Ritchie, 1985) o deficiencias hídricas (Hall et al., 1984; Grant et al., 1989) ubicaron esta etapa en unos 30 días centrados en la floración femenina (*silking*). El número de granos por unidad de superficie es función de la cantidad de plantas establecidas y del número de granos fijados por planta (NGP). Esta última variable es muy sensible a la ocurrencia de estreses abióticos, dado que se asocia en forma curvilínea a la tasa de crecimiento por planta durante el período crítico (TCP_{PC} ; Andrade et al., 1999). Del análisis de esta relación emergen rasgos fisiológicos distintivos de esta especie: (a) un umbral mínimo de TCP_{PC} por debajo del cual un individuo resulta estéril (umbral de esterilidad), (b) un nivel de respuesta decreciente del NGP a incrementos en la TCP_{PC} por encima del umbral de esterilidad, y (c) un NGP máximo capaz de ser establecido a altas TCP_{PC} . La existencia de un valor de TCP_{PC} umbral para la fijación de granos y la no linealidad en la relación anteriormente planteada son evidencias del relegamiento que sufre la espiga de maíz respecto a otros destinos que crecen simultáneamente (Eastin, 1970; Edmeades et al., 1979; Daynard y Muldoon, 1983). También ponen de manifiesto la existencia de un segundo factor, además de la TCP_{PC} , que influye sobre la determinación del NGP: la partición de asimilados a la espiga. Esto indica que tan o más importante que la producción de asimilados por planta durante el período crítico es la cantidad de asimilados asignados a la estructura reproductiva axilar que formará los granos. Por tal motivo, la tasa de crecimiento de la espiga durante el período crítico (TCE_{PC}) suele ser un mejor predictor del NGP (Echarte y Tollenaar, 2006; D'Andrea et al., 2008), ya que elimina la variación inducida por la partición de biomasa a espiga en la respuesta del NGP a la TCP_{PC} .

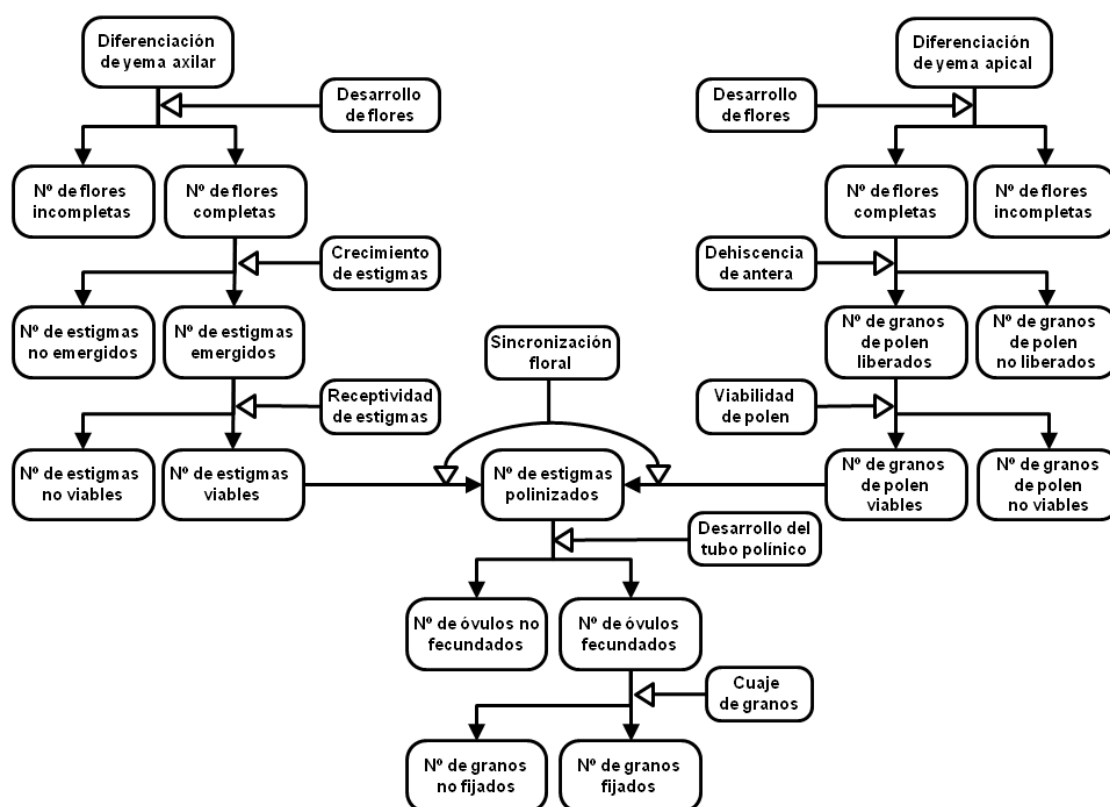
Bajo este marco conceptual ha sido ampliamente aceptado que la mayor parte de la merma en el NGP debida a déficits hídricos o nitrogenados es atribuible a caídas en la TCP_{PC} (Andrade et al., 2002), y que estreses severos también pueden afectar el NGP a través de reducciones en la partición de biomasa a espiga (Uhart y Andrade, 1995b; D'Andrea et al., 2008). Sin embargo, esta generalización es incierta e incompleta dado que (i) no es sustentada en términos cuantitativos y consecuentemente nada puede decirse de la contribución de cada una de estas fuentes de variación a las pérdidas de granos, y (ii) ignora la existencia de una tercera fuente de reducción del NGP que no está asociada a variaciones en la producción (TCP_{PC}) y asignación de asimilados (TCE_{PC} y relación TCE_{PC}/TCP_{PC}), sino a fallas en eventos reproductivos. Estreses abióticos alrededor de floración provocan importantes caídas del NGP a través de esta vía al influir negativamente sobre los procesos de polinización (Herrero y Johnson, 1980; Hall et al., 1982; Bassetti y Westgate, 1993c; Bolaños y Edmeades, 1993b), fecundación y cuaje de granos (Westgate y Boyer, 1986a; Zinselmeier et al., 1995). Estos efectos han sido considerados como la

principal fuente de reducción del NGP debida a golpes de calor (Barnabás et al., 2008), por lo que serán tratados con más detalle en la siguiente sección.

1.2.1.2. Efectos directos del golpe de calor sobre los eventos reproductivos

La incidencia de temperaturas supraóptimas alrededor de floración produce efectos negativos directos sobre distintos eventos reproductivos determinando caídas en el número de granos fijados a madurez (Lonnquist y Jugenheimer, 1943). El NGP es el resultado de sucesivas etapas que comienzan con el cambio de los meristemas vegetativos al estado reproductivo (Bonnett, 1966; Ruget y Duburcq, 1983; Stevens et al., 1986; Tranel et al., 2008). Los eventos de desarrollo experimentados por yemas masculinas (Tranel et al., 2008; Bedinger y Fowler, 2009) y femeninas (Bonnett, 1966; Ruget y Duburcq, 1983; Stevens et al., 1986) han sido profundamente estudiados desde la botánica. En la sucesión de etapas desde la iniciación reproductiva de los meristemas hasta el cuaje de grano se identifican diferentes momentos durante los cuales el golpe de calor podría afectar el NGP (figura 1.1).

Figura 1.1. Etapas de desarrollo de meristemas reproductivos masculinos y femeninos desde la diferenciación floral hasta la fijación de granos. Las flechas vacías indican los procesos involucrados en el pasaje a la siguiente etapa.



Las pérdidas de rendimiento debidas a golpes de calor alrededor de floración observadas en cereales creciendo a campo han sido asociadas a fallas en el proceso de polinización, principalmente por falta de polen viable (Barnabás et al., 2008). Esto se debe a que las altas temperaturas tienen una fuerte incidencia sobre las estructuras reproductivas masculinas, afectando tanto la cantidad de polen emitido (Schoper et al., 1987) como su viabilidad (Herrero y Johnson, 1980). En especies diclinas como

maíz, la incidencia de temperaturas supraóptimas previas a floración también provoca desincronización entre la liberación del polen y la exposición de los estigmas (Cicchino et al., 2010a), desencadenando fallas adicionales en la polinización. Por su parte, las estructuras reproductivas femeninas son relativamente tolerantes al estrés en etapas previas a la fecundación de ovarios, pero incrementan su sensibilidad luego de ser fecundadas (Dupuis y Dumas, 1990). Esta diferencia en el grado de tolerancia al estrés entre estructuras reproductivas podría en parte explicar la mayor información existente referida al efecto del golpe de calor sobre las inflorescencias masculinas respecto a las femeninas. Sin embargo, en un estudio reciente (Cicchino et al., 2010b) se observó que plantas sometidas a golpes de calor alrededor de floración sufrían mermas drásticas en el NGP a pesar de la incorporación de polen fresco. Dichas pérdidas fueron analizadas teniendo en cuenta la disponibilidad de asimilados por planta (i.e., mediante el análisis clásico de la relación NGP-TCP_{PC}), sin considerar los posibles efectos directos del estrés sobre el desarrollo y crecimiento de las estructuras femeninas que podrían limitar la fijación de granos mediante reducciones en el tamaño potencial de la espiga y el número de flores que exponen sus estigmas por fuera de las chalas.

El estudio de rasgos asociados al desarrollo y crecimiento de estructuras reproductivas femeninas ha recibido una mayor atención en condiciones potenciales de crecimiento (Otegui y Andrade, 2000; Westgate et al., 2004), o en algunas condiciones limitantes como deficiencias hídricas (Bassetti y Westgate, 1993c) o nitrogenadas (Edmeades et al., 1993). Existe información sobre (i) la respuesta del desarrollo de las flores a cambios introducidos por el mejoramiento genético (Edmeades et al., 1993), y a variaciones en prácticas agronómicas como distintas fechas (Cirilo y Andrade, 1994b; Otegui y Melón, 1997) y densidades (Otegui, 1997) de siembra, (ii) el patrón de emergencia de estigmas de flores que ocupan distintas posiciones a lo largo de la espiga (Bassetti y Westgate, 1993a), (iii) la persistencia de la viabilidad de los estigmas (Bassetti y Westgate, 1993a; Bassetti y Westgate, 1993b), y (iv) el efecto de la densidad de siembra en la dinámica de emergencia de estigmas (Cárcova et al., 2000; Uribe Larrea et al., 2002). La mayor parte de este conocimiento ha sido revisado (Otegui y Andrade, 2000; Westgate et al., 2004), y cuidadosamente resumido en modelos de simulación para la estimación del NGP en maíz (Lizaso et al., 2003; Fonseca et al., 2004). Esta información, si bien es abundante, resulta aún incompleta dado que mayormente involucra a genotipos de origen templado. Sólo algunos aspectos concernientes a la dinámica floral (e.g. duración del intervalo antesis-*silking*) y la fijación de granos (e.g. relación entre el número final de granos y el número total de óvulos) han sido analizados en genotipos con fondo genético tropical (Fischer y Palmer, 1984; Edmeades et al., 1993; Monneveux et al., 2005; Monneveux et al., 2006). Sin embargo, ninguno de estos estudios nos brinda una información completa respecto a los determinantes numéricos del NGP (i.e. número de flores desarrolladas, número de estigmas expuestos por fuera de las chalas y número de granos fijados; Otegui y Andrade, 2000).

1.2.2. Determinación del peso de grano en condiciones de golpe de calor

La acumulación de biomasa en el grano puede considerarse como la sucesión de tres etapas (Saini y Westgate, 2000). La primera, denominada fase *Lag*, comprende ca. 15 días desde la fecundación del ovario y se caracteriza por una escasa deposición de biomasa y una rápida acumulación de agua (Westgate y Boyer, 1986c). Durante dicho período se produce una activa división celular, donde quedan

establecidos el número de células endospermáticas y amiloplastos (Schweizer et al., 1995) involucrados en la posterior deposición de almidón. La disponibilidad de asimilados durante la fase *Lag* afecta la división de células endospermáticas y la capacidad de deposición de asimilados del grano (Capitanio et al., 1983; Reddy y Daynard, 1983; Jones et al., 1996). Dicha capacidad suele definirse como peso de grano potencial y está asociada a la tasa de llenado en la siguiente etapa (Jones et al., 1985). La segunda etapa de crecimiento del grano, denominada llenado efectivo del grano (LEG), se caracteriza por una activa acumulación de biomasa y cambios en la dinámica hídrica del grano. En ella el contenido de agua del grano continúa aumentando hasta algún momento variable de acuerdo a la especie (Egli y TeKrony, 1997) a partir del cual comienza la reducción del contenido hídrico. Así, la interacción entre las dinámicas del contenido hídrico y de biomasa del grano a lo largo del llenado determina una caída progresiva del porcentaje de humedad, hasta alcanzar un valor crítico que está asociado al cese de acumulación de materia seca (Saini y Westgate, 2000). Este valor crítico varía entre especies (Egli y TeKrony, 1997), y en maíz se encuentra entre 300 y 350 mg g⁻¹ (Carter y Poneleit, 1973; Westgate y Boyer, 1986c; Sala et al., 2007a). La tercera etapa, denominada madurez fisiológica, se caracteriza por una acumulación de biomasa nula y una pérdida continua de humedad del grano.

Debido a la estrecha asociación existente entre el contenido hídrico y de biomasa en el grano (Schnyder y Baum, 1992), el análisis de la dinámica de agua resulta de gran utilidad para predecir el crecimiento del grano. El máximo contenido hídrico permite estimar el peso de grano potencial (Borrás y Westgate, 2006), que de otro modo debería hacerse por técnicas muy laboriosas como la cuantificación del número de células endospermáticas y amiloplastos por grano. A su vez, en maíz se han reportado asociaciones estrechas entre (i) el máximo contenido de agua del grano y la tasa de llenado durante el llenado efectivo de granos (Borrás et al., 2003b), (ii) la tasa de desecación del grano una vez alcanzado el máximo contenido de agua y la duración del llenado (Gambín et al., 2007b), y (iii) la concentración de humedad del grano y la finalización del llenado de grano (Westgate y Boyer, 1986c; Sala et al., 2007a), entre otras relaciones (Gambín et al., 2007b).

La dinámica de crecimiento del grano puede ser modelada para simplificar su interpretación. El uso de modelos lineales permite caracterizar al peso de grano como el producto entre la tasa de llenado y la duración del período de llenado. En condiciones potenciales de crecimiento, el peso de grano está íntimamente relacionado con la primera de estas variables (Borrás y Otegui, 2001; Gambín et al., 2006). La TCP_{PC} por grano (estimador de la relación fuente-destino: F/D) es un buen indicador de la disponibilidad de asimilados alrededor de floración (F/D_{PC}) y consecuentemente durante la fase *Lag*, por lo que está altamente correlacionada con la tasa de llenado del grano y el peso de grano potencial (Gambín et al., 2006). Este modelo conceptual permite suponer que la incidencia de un estrés alrededor de floración que provoque un incremento en la F/D_{PC} aumentará el peso de grano potencial. Sin embargo, este tipo de respuesta podría no aplicarse al golpe de calor dado que las temperaturas extremas inciden en forma directa sobre procesos metabólicos que desencadenan la división de células endospermáticas y la biogénesis de amiloplastos (Jones et al., 1985; Hanft y Jones, 1986; Denyer et al., 1994; Singletary et al., 1994; Commuri y Jones, 1999; Engelen-Eigles et al., 2001).

Por su parte, las condiciones de crecimiento de la planta durante el llenado efectivo de granos también son determinantes para la definición del peso de grano (Cirilo y Andrade, 1996; Borrás y Otegui, 2001). El peso de grano de maíz es muy sensible a condiciones adversas que provoquen caídas en la relación fuente-destino

durante dicho período (F/D_{LEG} ; Borrás et al., 2004). Sin embargo, las mismas son poco frecuentes en la mayoría de las zonas productoras, donde el balance hídrico suele mejorar hacia fin del verano (Totis de Zeljkovich y Rebella, 1980) con sus implicancias positivas sobre la economía del agua, y el cultivo recibe aportes importantes de N como fertilizante (Cassman et al., 2002). Contrariamente, los eventos de golpes de calor ocurren de manera abrupta y en intervalos de tiempo reducidos. Por lo tanto, la incidencia de los mismos en etapas posteriores al período crítico podría causar reducciones severas en la F/D_{LEG} y, consecuentemente, en el peso de grano final. En esta circunstancia (i.e., estreses durante el llenado efectivo del grano), la caída del peso de grano suele estar mediada por una menor duración del período de llenado de grano, y no por caídas en la tasa de llenado (Badu-Apraku et al., 1983; Jones y Simmons, 1983). La limitación al crecimiento del grano impuesta por la oferta de fotoasimilados durante el llenado puede ser parcialmente sostenida por la reserva de carbohidratos solubles en agua almacenados en el tallo (Daynard et al., 1969; Jones y Simmons, 1983). Consecuentemente, la reserva de asimilados es considerada un atributo clave para incrementar la estabilidad de rendimiento en grano de cultivos extensivos (Slewinski, 2012), y ha sido identificada como uno de los principales rasgos que explican las diferencias genotípicas en la tolerancia a temperaturas supraóptimas durante el llenado de granos en trigo (Blum et al., 1994; Yang et al., 2002; Tahir y Nakata, 2005). La contribución de esta fuente de carbono al crecimiento del grano de maíz ha sido evaluada en condiciones de sequía (Ouattar et al., 1987a), estrés lumínico (Uhart y Andrade, 1995a; Andrade y Ferreiro, 1996) y defoliación (Jones y Simmons, 1983), pero nunca en situaciones de golpes de calor.

El efecto de temperaturas supraóptimas sobre el crecimiento del grano de maíz ha sido estudiado mediante cultivos de granos *in vitro* (Jones et al., 1984; Cheikh y Jones, 1994; Singletary et al., 1994; Commuri y Jones, 1999; Commuri y Jones, 2001), plantas asiladas en macetas (Badu-Apraku et al., 1983; Wilhelm et al., 1999), o calentamientos localizados sobre la espiga (Commuri y Jones, 2001). Estos estudios han sido de utilidad para comprender los efectos del golpe de calor sobre los procesos metabólicos involucrados en las caídas del peso de grano, pero no permiten establecer comparaciones directas con situaciones de estrés que ocurren a campo dado que (i) no suelen reproducir las variaciones diarias de las temperaturas (i.e., utilizan temperaturas constantes), y (ii) no contemplan los efectos del estrés sobre la fuente de asimilados (producción de biomasa durante el llenado efectivo de granos y carbohidratos de reserva) y las relaciones hídricas del grano.

1.3. Estrategias de producción para ambientes con elevado riesgo de estrés por golpe de calor

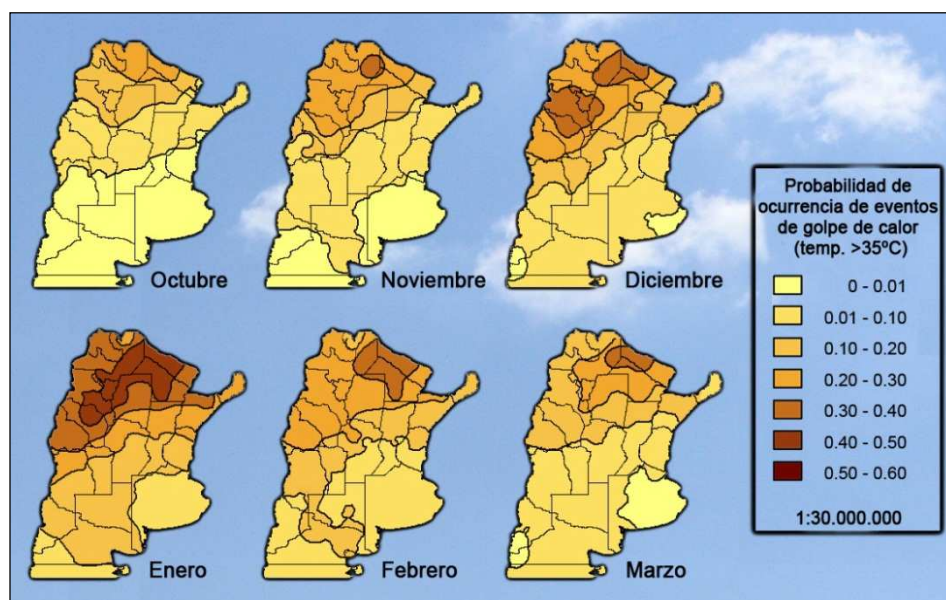
En condiciones no limitantes de crecimiento, la estrategia de producción que maximiza el rendimiento de cultivos de grano extensivos consiste en seleccionar la fecha de siembra que, acorde al genotipo elegido y su interacción con el ambiente, permite maximizar la acumulación de radiación incidente durante el PC. Sin embargo, si la ocurrencia de eventos de estreses abióticos en dicho período es frecuente año tras año, los rendimientos serán inestables, lo cual constituye un riesgo elevado para el sistema de producción. Existen dos alternativas ampliamente conocidas para hacer frente a los estreses abióticos: el escape y la tolerancia al estrés (Loomis y Connor, 1992). La estrategia de escape consiste en evitar la coincidencia de las etapas más sensibles del cultivo con los momentos de mayor probabilidad de

ocurrencia del estrés. La estrategia de tolerancia se basa en la utilización de híbridos adaptados para soportar mejor el estrés y así minimizar las pérdidas de rendimiento.

1.3.1. Estrategia de escape al golpe de calor

La elaboración de estrategias de producción basadas en el escape al golpe de calor requiere de tres aspectos primordiales: (i) conocer las características del estrés y su variación intra e inter-anual, (ii) identificar las etapas del cultivo más sensibles al estrés, y (iii) predecir la sucesión de la fenología del cultivo en el ambiente objetivo. Considerando el primero de estos aspectos, y teniendo en cuenta a la República Argentina, la probabilidad de ocurrencia de eventos de golpe de calor es mayor para las épocas del año próximas al solsticio de verano y, en una escala espacial, para la región norte (figura 1.2). En dicha región, la probabilidad de ocurrencia de días con temperaturas máximas superiores a 35 °C durante la primera década de enero se incrementa de este a oeste, variando entre 20 y 30% en la provincia de Misiones hasta un 40 y 50% en la región seca y llana del NO argentino (oeste de Chaco y Formosa y norte de Santiago del Estero). Más hacia el oeste, la elevación del terreno (efecto orográfico) interrumpe dicho gradiente y determina disminuciones de los eventos extremos. Continuando hacia el sur dicha probabilidad disminuye en las provincias de Corrientes, norte de Córdoba y norte de Santa Fe (20 a 30%), para ubicarse en apenas 1% en Tierra del Fuego. Por su parte, Buenos Aires constituye la provincia de la región pampeana con menor riesgo térmico, debido al efecto moderador del océano Atlántico.

Figura 1.2. Mapa de distribución de la probabilidad de ocurrencia de eventos de golpes de calor (días con temperaturas máximas superiores a 35 °C) en la región centro-norte de la República Argentina para el primer decenio de los meses comprendidos entre octubre y marzo (Rattalino Edreira et al., 2011).



Tal como fuera descrito anteriormente, el período de mayor sensibilidad a distintos tipos de estrés en maíz se ubica alrededor del período de floración. Esta respuesta también sería esperable ante la incidencia de golpe de calor, pero las características particulares de este estrés (descritas previamente) sumadas a la inexistencia de experimentos a campo orientados al análisis de los componentes

fisiológicos y numéricos del rendimiento, no permiten (i) identificar claramente la importancia relativa de cada subperíodo en la determinación de los componentes numéricos del rendimiento, y consecuentemente tampoco (ii) aplicar las mermas relativas conocidas para otras restricciones (Fischer y Palmer, 1984; Hall, 1984) a condiciones de temperaturas supraóptimas. En un estudio reciente, Cicchino et al. (2010b) realizaron una primera aproximación al problema al evaluar los efectos de golpes de calor alrededor de floración sobre el rendimiento en grano de un híbrido templado en condiciones de campo. Sin embargo, dicho estudio tiene un alcance limitado pues (i) sólo contempló las etapas pre y postfloración del período crítico para la fijación de granos, sin considerar etapas posteriores donde se define el peso de grano, y (ii) la metodología empleada para producir el golpe de calor no permitió homogeneizar las características del estrés entre dichas etapas (i.e., los tratamientos se aplicaron sucesivamente a lo largo del ciclo de un cultivo sembrado en una única fecha), haciendo poco comparables los momentos de calentamiento. En esta tesis, se amplían los resultados obtenidos por Cicchino et al. (2010b) considerando todas estas restricciones.

Finalmente, el tercer aspecto a considerar para el diseño de estrategias de escape involucra la combinación de factores inherentes al cultivo (e.g. requerimientos térmicos para las diferentes etapas, respuesta al fotoperíodo) y al ambiente (e.g. temperatura, fotoperíodo) para predecir la sucesión de las etapas ontogénicas. Los modelos de simulación de uso agronómico (Jones y Kiniry, 1986; McCown et al., 1996) constituyen uno de los instrumentos para llevar a cabo esta tarea, lo cual no será abordado en la presente tesis.

1.3.2. Estrategia de tolerancia al golpe de calor

El desarrollo de germoplasma adaptado a ambientes con elevado riesgo de incidencia de golpes de calor ha sido una estrategia clave para reducir el impacto de las altas temperaturas sobre el rendimiento (Cairns et al., 2012). Sorprendentemente, en maíz no han sido reportados experimentos que evalúen claramente las diferencias genotípicas en la tolerancia al golpe de calor. Por un lado, muchos experimentos a campo conducidos en ambientes de alta temperatura no incluyen testigos creciendo simultáneamente en ausencia del estrés, haciendo imposible la cuantificación fidedigna de mermas relativas como las existentes para irradiancia (Fischer y Palmer, 1984) o déficit hídrico (Hall et al., 1984). Por otro lado, las conclusiones derivadas de estudios realizados sobre plantas creciendo en condiciones de laboratorio (Schoper et al., 1986; Schoper et al., 1987; Commuri y Jones, 2001) no pueden extrapolarse a ambientes de cultivo, dado que los mecanismos de tolerancia al estrés podrían estar asociados a rasgos complejos que se expresan en las condiciones particulares de plantas creciendo en comunidad a campo. Entre estos se destacan (i) el modo en que se instala la condición de temperatura supraóptima, fuertemente ligada a la marcha diaria de la radiación solar, incluyendo sus vaivenes dentro y entre días asociados a la nubosidad, y (ii) la posibilidad de asegurar un crecimiento de plantas esperable en condiciones reales y no confundido por factores ajenos a los tratamientos propiamente dichos, como un correcto crecimiento radical imposible de mimetizar en macetas (Dardanelli et al., 2003).

Debido a su origen filogenético, los maíces tropicales provenientes de zonas de baja altitud podrían constituir una fuente importante de tolerancia al golpe de calor. Por muchos años los maíces tropicales han sido caracterizados por presentar rasgos agronómicos indeseables como alto porte, excesivo follaje, ciclo muy prolongado y bajo índice de cosecha (Fischer y Palmer, 1984). Los programas de mejoramiento

genético, realizados principalmente por CIMMYT desde mediados de la década de 1970 (Ortiz et al., 2010), han derivado en el acortamiento de la etapa vegetativa (a través de reducciones del número de hojas a floración), una progresiva reducción de la altura de planta y una mayor asignación de asimilados a espiga (Johnson et al., 1986). Estos cambios han dado lugar a incrementos en la densidad de siembra óptima para el cultivo, reducciones en la esterilidad de plantas y aumentos en el índice de cosecha (Fischer y Palmer, 1984; Johnson et al., 1986). Además de estos aspectos, el mejoramiento genético en maíces tropicales se orientó sistemáticamente a mejorar el desempeño reproductivo ante episodios de sequía (Bolaños y Edmeades, 1993a; Edmeades et al., 1999) y, en menor medida, estrés por deficiencias de nitrógeno (Lafitte y Edmeades, 1994a; Lafitte y Edmeades, 1994b). Las ganancias genéticas de rendimiento bajo condiciones de déficit hídrico fueron asociadas a incrementos en la prolificidad (i.e., número de espigas con granos por planta) e índice de cosecha, y a reducciones en el intervalo antesis-*silking* y el aborto de granos (Bolaños y Edmeades, 1993a; Bolaños y Edmeades, 1993b; Monneveux et al., 2006).

A pesar de las mejoras genéticas, los materiales tropicales aún presentan menor potencial de rendimiento que los templados (Ortiz et al., 2010). Esto ha sido atribuido al mayor interés de compañías semilleras por el desarrollo de materiales mejor adaptados a ambientes de alta productividad, como los templados, respecto de aquellos mejores adaptados a ambientes de baja productividad, como los tropicales (Duvick, 2005). Esto ha llevado a algunos mejoradores a producir híbridos comerciales cruzando individuos de grupos heteróticos de origen templado por otros de origen tropical (i.e., híbridos templado \times tropical), para combinar así características de alto potencial de rendimiento con aquellas de mejor adaptación a ambientes tropicales (Griffing y Lindstrom, 1954; Abadassi y Hervé, 2000; Vasic et al., 2006; Whitehead et al., 2006). Independientemente de las ventajas y desventajas del enfoque “*top-down*” (i.e., de fenotipo a gen) utilizado por los mejoradores, hasta el momento se tiene escasa información sobre las bases fisiológicas que explican las diferencias en el potencial de rendimiento entre maíces templados y tropicales (Lafitte y Edmeades, 1997), y ninguna cuantificación precisa referida a diferencias de tolerancia a las temperaturas supraóptimas.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del golpe de calor en distintos momentos del ciclo del cultivo sobre los determinantes ecofisiológicos y numéricos del rendimiento en grano de tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante (i.e., templado y tropical) que presumiblemente difieren en su grado de tolerancia a las altas temperaturas.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Analizar las variaciones de rendimiento entre genotipos templados y tropicales sometidos a golpes de calor en distintos momentos del ciclo de cultivo, teniendo en cuenta la captura de radiación, eficiencia en el uso de la radiación para producir biomasa y partición de la biomasa producida a granos.
2. Identificar las causas asociadas a la caída en el NGP mediante aproximaciones a nivel de planta y de órgano.

- 2.1. Desarrollar una nueva aproximación para identificar fuentes de variación del NGP a nivel de planta, basada en el análisis combinado de las relaciones NGP-TCP_{PC} y NGP-TCE_{PC}.
- 2.2. Estudiar características reproductivas (e.g. prolificidad, dinámica de antesis y *silking*, desarrollo de flores, exposición de estigmas, fijación de granos) que pudieran ser afectadas ante la ocurrencia de estrés por altas temperaturas, e interpretar su incidencia en el éxito reproductivo.
3. Caracterizar la deposición de biomasa en grano (e.g. tasa y duración del llenado de granos) y encontrar posibles asociaciones con el contenido hídrico del grano y la disponibilidad de asimilados durante el llenado (fotosíntesis del período y carbohidratos de reserva).

1.5. Hipótesis

Hipótesis 1: La magnitud de las pérdidas de rendimiento debidas a golpes de calor depende del momento de incidencia del estrés.

Predicción 1: Mayores pérdidas de rendimiento cuando el golpe de calor ocurre alrededor de floración que durante la primera mitad del llenado efectivo de granos.

Hipótesis 2: Por haber sido mejorado en ambientes con elevadas temperaturas, híbridos con germoplasma tropical presentan un mejor comportamiento frente al golpe de calor que los híbridos templados, trasladando este comportamiento favorable a su progenie tropical × templado

Predicción 2: Mayores caídas de rendimiento en el híbrido templado que en el resto de los genotipos.

Hipótesis 3: Golpes de calor alrededor de floración, al incrementar las fallas en eventos reproductivos, provocan caídas adicionales en el NGP no asociadas a la disponibilidad de asimilados en la espiga (i.e., efectos directos del estrés sobre eventos reproductivos). La magnitud de estas pérdidas dependerá del nivel de tolerancia de los genotipos a las temperaturas supraóptimas.

Predicción 3: Mayor efecto directo del estrés sobre el NGP en el híbrido templado que en el resto de los genotipos.

Hipótesis 4: Golpes de calor alrededor de floración afectan el desarrollo y crecimiento de flores femeninas.

Predicción 4a: Menor número de flores desarrolladas en plantas estresadas alrededor de floración que en plantas no estresadas.

Predicción 4b: Distinta dinámica de emisión de estigmas entre plantas estresadas alrededor de floración que en plantas no estresadas.

Hipótesis 5: La diferencia genotípica en la sensibilidad del peso de grano a la incidencia de golpes de calor durante la primer mitad del llenado está asociada a la disponibilidad de asimilados de reserva en tallo.

Predicción 5: Mayor caída del peso de grano en genotipos con menor contenido de carbohidratos solubles en agua almacenados en el tallo.

1.6. Experimentos realizados para cumplir con los objetivos y estructura de la tesis

Para cumplir con los objetivos planteados y poner a prueba las hipótesis formuladas se realizaron dos experimentos a campo. En ellos se combinó, en forma factorial, tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante, dos regímenes térmicos (con y sin golpe de calor) y tres momentos de incidencia de los regímenes térmicos. En el Capítulo 2 de la tesis se describe detalladamente el diseño experimental utilizado, los tratamientos analizados y el sistema de calentamiento empleado para producir los golpes de calor. Por su parte, la metodología implementada para medir/calcular las variable de interés y analizar los datos, se describe en la sección “materiales y métodos” de cada capítulo de resultados (Capítulos 3-6).

La presente tesis se compone de cuatro capítulos de resultados. En el primero de ellos (Capítulo 3) se analizan los efectos del golpe de calor sobre la producción de biomasa y el rendimiento en grano utilizando el marco conceptual ecofisiológico propuesto por Passioura (1996), basado en la captura de recursos, la eficiencia en el uso de los recursos capturados para producir biomasa y la partición de la biomasa producida a granos. Los resultados de ese capítulo permiten cumplir con el objetivo 1 y poner a prueba las hipótesis 1 y 2 de la tesis. En el Capítulo 4 se analizan los efectos del golpe de calor sobre la determinación de número de granos mediante una aproximación clásica que vincula el NGP con el crecimiento de planta y espiga durante el PC. Adicionalmente, se desarrolla una nueva metodología, basada en el estudio combinado de ambas relaciones, que mejora la interpretación de las causas subyacentes a las pérdidas de granos en maíz. Los resultados derivados de ese capítulo corresponden a la primera parte del objetivo 2, y permiten poner a prueba la tercera hipótesis del trabajo. En el Capítulo 5 se profundiza el análisis de los resultados del capítulo anterior a través del estudio del desarrollo y crecimiento de las flores femeninas. Con esto se da cumplimiento a la segunda parte del objetivo 2, y se pone a prueba la cuarta hipótesis del trabajo. En el último Capítulo de resultados (Capítulo 6) se evalúan los efectos del golpe de calor sobre la determinación del peso de grano, teniendo en cuenta la dinámica del contenido hídrico del grano y la disponibilidad de asimilados disponible por grano durante el PC y el LEG. En este caso, se cumple con el objetivo 3 y se pone a prueba la hipótesis 5. Finalmente, en el Capítulo 7 se realiza la confrontación de las hipótesis, se discute el alcance de los resultados obtenidos en esta tesis y su posible aplicación en investigaciones futuras.

Diseño experimental, tratamientos y generación del golpe de calor

2.1. Diseño experimental y tratamientos

Se realizaron experimentos a campo durante las estaciones de crecimiento 2008-2009 (Exp₁) y 2009-2010 (Exp₂) en la unidad experimental del Departamento de Producción Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34° 35'S, 58° 29'O), sobre un suelo Argiudol vértico. Los tratamientos incluyeron un arreglo factorial de tres híbridos simples de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado; Tr: tropical; TeTr: templado × tropical), dos regímenes de temperatura de quince días de duración (T_C: temperatura control; T_E: temperatura estresante), y tres momentos de incidencia de los régimen térmicos (M₁: durante los quince días previos a antesis; M₂: durante quince días a partir de inicio de *silking*; M₃: durante quince días a partir del inicio del llenado activo de granos). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño en parcela dividida con tres repeticiones. Los momentos de incidencia (M) se ubicaron en la parcela principal, los híbridos (H) en la subparcela y los regímenes térmicos (RT) en la sub-subparcela (de aquí en adelante se denominará parcela). La parcela principal consistió en 18 hileras de 10 m de longitud distanciadas a 0.5 m.

2.1.1. Generación del golpe de calor

El golpe de calor fue generado a través de abrigos de polietileno cristal de 100 μm (Cirilo y Andrade, 1996) montados sobre estructuras de madera (mini-invernáculos; figura 2.1a). Las dimensiones de los mini-invernáculos fueron 3.5 m de alto, 3 m de largo y 2 m de ancho, determinando un área de tratamiento de 6 m² que incluyó ca. 56 plantas. En el tratamiento de estrés el polietileno se extendió hasta el suelo, exceptuando uno de los laterales donde se mantuvo una abertura de ca. 10 cm a nivel del suelo para garantizar el intercambio gaseoso. En este tratamiento se pretendió alcanzar temperaturas del aire a la altura de la espiga entre 35 y 45 °C alrededor del mediodía. En las parcelas control se instalaron mini-invernáculos de iguales características a los empleados en las parcelas de estrés con el fin de evitar posibles errores en la interpretación de resultados dada las alteraciones en el régimen radiativo (disminución de radiación solar incidente e incrementos en la radiación difusa; Cabrera et al., 2009) provocadas por el polietileno. Las paredes laterales de los mini-invernáculos de las parcelas control se mantuvieron abiertas hasta ca. 1.4 m sobre la superficie del suelo para evitar el ascenso de la temperatura. Las cubiertas de polietileno fueron retiradas al finalizar el período de calentamiento.

En las parcelas de estrés se dispuso de un sistema de calentamiento complementario (figura 2.1b) con el fin de obtener incrementos térmicos similares a lo largo de todas las combinaciones de tratamientos, presuponiendo que la diferente estructura de planta de los híbridos podía interferir en la distribución de calor generado naturalmente en el interior de los mini-invernáculos. El sistema de calentamiento consistió en un calentador eléctrico con ventilador controlado por un sistema central programado (Cavadevices, Buenos Aires, Argentina) conectado a un sensor de temperatura (TC1047, Microchip Technologies, Chandler, AZ). El controlador fue programado teniendo en cuenta la evolución promedio diaria de las temperaturas de Buenos Aires para el período de calentamiento y el incremento térmico capaz de ser alcanzado con dichos mini-invernáculos. Los cálculos realizados a partir de información meteorológica del sitio experimental determinaron que el sistema de calentamiento fuera programado para (i) iniciar el calentamiento a las 800 h, (ii) producir un incremento gradual de la temperatura hasta alcanzar ca. 40 °C a la altura de la espiga al mediodía (1200 h) y sostener la temperatura en ese valor

por 4 horas, y (iii) terminar el calentamiento asistido por el sistema eléctrico a las 16:00 hs para permitir una disminución gradual de la temperatura. El calentador, además, fue calibrado para detenerse cuando el sensor alcanzase los valores umbrales de temperatura programados. El ventilador, en cambio, se programó para funcionar permanentemente entre las 8:00 hs y las 16:00 hs, a fin de reducir el gradiente vertical de temperatura dentro del abrigo.

Figura 2.1. (a) Mini-invernáculo, (b) sistema de calentamiento con controlador de temperatura, y (c) tratamientos de régimen térmico aplicados alrededor de una misma fecha calendario.



2.1.2. Momentos de incidencia del golpe de calor

El tratamiento de golpe de calor durante M_1 comenzó cuando el 50% de las plantas en las parcelas control alcanzó el estadio ontogénico de V_{15} (Te y TeTr) o V_{16} (Tr), y finalizó cuando el 10% de estas plantas se encontraba en antesis. Este tratamiento se extendió durante la primera mitad del período crítico para la fijación de granos (ca. 15 días *presilking*; Fischer y Palmer, 1984; Andrade et al., 1999). El calentamiento durante M_2 se inició cuando el 10% de las plantas del tratamiento control alcanzó *silking* y finalizó a los quince días de instalado el tratamiento. Este período se extendió durante la segunda mitad del PC. El golpe de calor durante M_3 comenzó a los quince días de registrarse el 50% (Exp_1) o 90% (Exp_2) de *silking* en plantas de la parcela control y finalizó quince días más tarde. Este período de calentamiento se extendió durante la primera mitad del llenado efectivo del grano.

2.1.3. Genotipos

Los híbridos utilizados fueron 2M545 HX (Te), 2B710 HX (Tr) y 2A120 HX (TeTr), todos producidos por Dow Agrosiences Argentina. Estos materiales fueron seleccionados por tener (i) distinto grado de adaptación a ambientes con regímenes térmicos contrastantes, (ii) similar madurez relativa (Te: 124; Tr: 136; TeTr: 128), y (iii) baja sensibilidad al fotoperíodo. Adicionalmente, el híbrido TeTr fue seleccionado por presentar algún grado de parentesco con los genotipos Te y Tr (S. Uhart, Dow Agrosiences, com. pers.).

2.2. Condiciones de cultivo

Los experimentos se sembraron tardíamente con el fin de evitar la coincidencia de las fechas de calentamiento con los momentos del año de mayor temperatura y radiación, y así evitar sobrecalentamientos en los tratamientos de estrés e incidencia de estrés térmico en los tratamientos control. Adicionalmente, se utilizaron distintas fechas de siembra para cada combinación de $M \times H$ con el fin de hacer coincidir la fecha de inicio de todos los momentos de calentamiento (i.e., tratamientos de

régimen térmico aplicados alrededor de una misma fecha calendario; figura 2.1c). A pesar de que las distintas fechas de siembra podría exponer al cultivo a condiciones fototérmicas diferentes que afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas, esta metodología constituye una mejora sustancial en la evaluación del estrés respecto a aquella empleada por Cicchino et al. (2010b) la cual consistió en emplear una única fecha de siembra y distintos fechas de inicio de los momentos de calentamientos (Cicchino et al., 2010b). Dicha mejora se consigue al homogeneizar la intensidad del estrés entre las combinaciones de $M \times H$, dado que la magnitud del calentamiento en los tratamientos de estrés depende principalmente de la carga de radiación incidente diaria (Cicchino et al., 2010a).

La estimación de cada fecha de siembra se realizó mediante un modelo de tiempo térmico (Ritchie y NeSmith, 1991), utilizando datos históricos de temperatura e información provista por el criadero de los requerimientos térmicos de cada genotipo para alcanzar floración. La siembra se realizó en forma manual utilizando tres semillas por posición, para luego ser raleadas a una planta por sitio al estado de tres hojas liguladas [V_3 ; Ritchie y Hanway, (1982)]. La densidad final de cultivo fue de 9 plantas m^{-2} . El sitio experimental fue irrigado durante toda la estación de crecimiento mediante un sistema de riego por goteo, manteniendo el contenido hídrico del suelo cercano a capacidad de campo. Todas las parcelas fueron fertilizadas con urea en V_6 (Ritchie y Hanway, 1982) a razón de 200 kg N ha^{-1} . El cultivo se mantuvo libre de malezas, insectos y enfermedades mediante controles químicos y manuales. Las plantas sometidas a golpes de calor durante M_1 y M_2 fueron polinizadas manualmente con polen fresco para evitar los efectos drásticos del golpe de calor sobre la polinización (descritos en la sección 1.2.1). Las polinizaciones se realizaron diariamente (entre 9:00 y 11:00 hs) desde el inicio de emisión de estigmas por fuera de las chalas hasta que no se registraron nuevas exposiciones. Considerando el retraso esperado en la fecha de *silking* de las plantas calentadas en M_1 (Cicchino et al., 2010a), se sembraron plantas adicionales retrasadas entre 5 y 10 días para contar con polen fresco durante el período de receptividad de los estigmas.

Golpe de calor en híbridos de maíz de fondo genético contrastante:

Diferencias en el crecimiento, partición de biomasa y uso de

reservas^{3.1}

^{3.1}El contenido de este capítulo fue publicado en Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E., 2012. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Differences in crop growth, biomass partitioning and reserves use. Field Crops Res. 130, 87-98.

3.1. Introducción

La pérdidas de rendimiento pueden ser analizadas en términos de los determinantes fisiológicos del rendimiento; i.e., cantidad de recursos capturados por el cultivo, eficiencia de conversión de los recursos en biomasa y partición de biomasa a grano (Sinclair y de Wit, 1975; Gifford et al., 1984; Passioura, 1996). Tal como fuera descrito en el Capítulo 1, el golpe de calor influye sobre la producción de biomasa principalmente a través de alteraciones en los procesos relacionados con la fijación de carbono, debido a que el aparato fotosintético es uno de los componentes de las plantas más sensible a las temperaturas supraóptimas (Wahid et al., 2007). Se registran así caídas en la eficiencia en el uso de la radiación (Reynolds et al., 2007; Cicchino et al., 2010b), definida como la producción de biomasa por unidad de radiación interceptada. El golpe de calor incide además sobre el rendimiento en grano a través de caídas en el índice de cosecha (Ferris et al., 1998; Craufurd et al., 2002); i.e., la proporción de biomasa total que se ubica en biomasa de granos. Esta última respuesta se ha verificado principalmente cuando el estrés ocurre alrededor de floración (Vara Prasad et al., 1999). En ambos casos (EUR e IC) la tendencia podría diferir entre híbridos de origen templado y tropical. El objetivo de este capítulo fue analizar los efectos del golpe de calor en distintos momentos del ciclo de cultivo sobre la captura de radiación, la eficiencia en el uso de la radiación y el índice de cosecha de tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante.

3.2. Materiales y métodos

El diseño experimental y los tratamientos impuestos fueron detallados en el Capítulo 2. Se incluyen a continuación detalles sobre mediciones y cálculos particulares para la caracterización de los atributos de interés en este capítulo.

3.2.1. Mediciones y cálculos

Durante todo el ciclo del cultivo se registraron diariamente la temperatura media del aire y la radiación fotosintéticamente activa incidente (RFA) mediante una estación meteorológica (Weather Monitor II, Davis Instruments, USA) ubicada a 100 m del sitio experimental. En cada mini-invernáculo se registró la temperatura horaria del aire durante el período de calentamiento utilizando sensores conectados a *data-loggers* (Temp-Logger, Cavadevices, Argentina). El sensor se colocó en el centro del mini-invernáculo y a la altura de la espiga principal. Los registros horarios de temperatura fueron utilizados para computar la temperatura acumulada de estrés (TAE; en °Ch) por medio de la siguiente ecuación:

$$TAE = \sum_{i=1}^N (T_x - T_o) \quad \text{para } T_x > T_o \quad (3.1)$$

donde N es la duración del período de tratamiento (en horas), T_x es la temperatura horaria del aire a la altura de la espiga (en °C), y T_o es la temperatura óptima (en °C). Se utilizaron dos valores de T_o para el cálculo de TAE. El primer valor de T_o se estimó para cada genotipo utilizando el algoritmo descrito por Cicchino et al. (2010a). La T_o computada fue similar (ca. 33 °C) entre híbridos, concordando con estudios previos en maíz sobre variabilidad genotípica en las temperaturas cardinales (Ritchie y NeSmith, 1991; Padilla y Otegui, 2005). El segundo valor de T_o utilizado para el cálculo de TAE fue 35 °C debido a su amplia utilización como valor térmico umbral por encima del cual se producen daños por golpe de calor en maíz (Wahid et

al., 2007; Barnabás et al., 2008). Los regímenes térmicos también fueron caracterizados mediante la temperatura superficial de distintos órganos. Las mediciones se realizaron durante el período de calentamiento por medio de un termómetro infrarrojo (OS541, Omegaette, Comunidad Europea). El muestreo se llevó a cabo entre las 11:00 y 13:00 hs de un día diáfano a fin de conocer los máximos niveles térmicos alcanzados. Se midió la temperatura superficial de panoja, espiga, hojas y entrenudos de tres plantas por parcelas en todas las combinaciones de tratamientos (exceptuando las mediciones de panoja, espiga y hojas superiores de los tratamientos M₁ debido a que dichos órganos se encontraban ausentes durante el período de calentamiento).

En el estadio de V₁₁ se marcó en cada parcela un total de nueve plantas aledañas de similar tamaño (estimación visual). En cada planta se registraron los estadios ontogénicos de V₁₅, R₁, R₂ y R₆ (Ritchie y Hanway, 1982). Todas las mediciones y análisis realizados sobre el cultivo fueron referidas a tres períodos: (i) etapa prefloración (PRE) del PC, entre V₁₅ y R₁, (ii) etapa postfloración (POST) del PC, entre R₁ y R₂, y (iii) llenado efectivo de granos (LEG), entre R₂ y R₆. El área foliar de cada planta marcada se estimó a partir de floración como la sumatoria de todas las hojas verdes (estimación visual). El área individual de cada hoja se estimó a partir del producto entre largo y ancho máximo de la lámina y 0.75 (Montgomery, 1911). Se calculó el índice de área foliar verde (IAF) en R₁ (IAF_{R1}) y R₆ (IAF_{R6}) a partir del producto entre el área foliar por planta y la densidad de siembra.

La fRFAi se determinó a partir de V₁₅ mediante el empleo de un sensor cuántico lineal (Cavabar, Cavadevices, Argentina). En cada parcela, se realizaron mediciones instantáneas de la RFA: (i) una sobre el tope del canopeo y fuera de los mini-invernáculos (RFA₀; en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), y (ii) cuatro por debajo de las hojas verdes basales y por sobre las senescentes (RFA_{BC}; en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Todas las mediciones se realizaron en días diáfanos entre las 11:30 y 14:30 hs, ubicando el sensor en forma diagonal a las hileras. Los valores de RFA₀ fueron corregidos por la atenuación producida por el polietileno (ca. -15%) para obtener la RFA al tope del canopeo y adentro de los mini-invernáculos (RFA_{TC}). En cada fecha de medición, los valores de fRFAi se calcularon a partir la ecuación (3.2.)

$$fRFAi = 1 - \left(\frac{RFA_{BC}}{RFA_{TC}} \right) \quad (3.2)$$

La fRFAi diaria entre observaciones fue estimada por interpolación lineal. La fRFAi durante los períodos de *presilking* (fRFAi_{PRE}), *postsilking* (fRFAi_{POST}), y llenado efectivo de granos (fRFAi_{LEG}) se calculó como el promedio de la fRFAi diaria en cada período.

La RFA diaria se corrigió por la atenuación producida por el polietileno y la RFA acumulada durante los períodos de *presilking* (RFA_{PRE}), *postsilking* (RFA_{POST}), y llenado efectivo de granos (RFA_{LEG}) se computó como la suma de la RFA diaria durante cada período. La RFA interceptada por el cultivo (RFAi) durante *presilking* (RFAi_{PRE}), *postsilking* (RFAi_{POST}), y llenado efectivo de granos (RFAi_{LEG}) se calculó mediante la suma diaria del producto entre RFA y fPARi en cada período.

La biomasa aérea de todas las plantas marcadas se estimó en V₁₅, R₁ y R₂ por medio de modelos alométricos basados en la relación entre la biomasa de planta y variables morfométricas (Vega et al., 2000; Maddonni y Otegui, 2004; Pagano y Maddonni, 2007). En cada combinación de tratamiento, se cosecharon 12-15 plantas de tamaño variable (i.e., altura de planta y diámetro de base de tallo) en los estadios ontogénicos de V₁₅, R₁ y R₂ para la construcción de los mencionados modelos. Las mediciones morfométricas incluyeron diámetro de la base del tallo, altura de la

planta desde el nivel del suelo hasta la lígula de la última hoja expandida, y máximo diámetro de la espiga (sólo para R_1 y R_2). Las relaciones morfométricas se establecieron entre (i) el volumen del tallo (en cm^3) y la biomasa aérea de la planta sin espiga (en g), y (ii) el diámetro máximo de la espiga (en mm) y la biomasa de la espiga en R_1 y R_2 (en g). El volumen del tallo se estimó con la fórmula del cilindro, utilizando para su cómputo el diámetro promedio de la base del tallo y la altura de la planta. Los modelos ajustados entre la biomasa de planta y espiga y las variables morfométricas fueron siempre significativos ($P < 0.001$) y los coeficiente de determinación promediaron 0.77 a lo largo todas las combinaciones de tratamiento.

Todas las plantas marcadas fueron cosechadas a madurez fisiológica (capa negra visible en los granos de la porción media de la espiga) para la determinación de la biomasa final por planta. La tasa de crecimiento del cultivo (TCC , en $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$) durante *presilking* (TCC_{PRE}), *postsilking* (TCC_{POST}), y llenado efectivo de granos (TCC_{LEG}) se estimó a partir de los valores de biomasa estimados (en V_{15} , R_1 y R_2) y observados (en R_6) mediante el cociente entre la biomasa acumulada por el cultivo (en g m^{-2}) y el tiempo transcurrido (en días) en cada período. Similarmente, la eficiencia en el uso de la radiación (EUR , en g MJ^{-1}) se calculó como el cociente entre la biomasa aérea acumulada por el cultivo (en g m^{-2}) y la RFAi acumulada (en MJ m^{-2}) durante el período de *presilking* (EUR_{PRE}), de *postsilking* (EUR_{POST}) y de llenado efectivo de granos (EUR_{LEG}).

En madurez fisiológica, las espigas de cada planta marcada fueron cosechadas individualmente a mano. Los granos fueron pesados para determinar el rendimiento en grano de la planta (en g planta^{-1}) y del cultivo (RGC , en g m^{-2}). El  ndice de cosecha se calculó como la relación entre el rendimiento en grano y la biomasa aérea de la planta a madurez fisiológica. El rendimiento en grano del cultivo fue analizado en términos de la contribución aparente de reservas y el crecimiento del cultivo durante el llenado efectivo de grano ($\text{CC}_{\text{LEG}} = \text{Biomasa}_{R_6} - \text{Biomasa}_{R_2}$), asumiendo que (i) la acumulación de biomasa en granos es despreciable hasta R_2 , (ii) el uso aparente de reservas ($\text{UAR} = \text{RGC} - \text{CC}_{\text{LEG}}$, y (iii) no existió crecimiento del cultivo durante el llenado efectivo de granos (i.e., $\text{CC}_{\text{LEG}} = 0$) cuando $\text{biomasa}_{R_6} \leq \text{biomasa}_{R_2}$. Esta aproximación es similar a la utilizada en el análisis de la respuesta del peso de grano a variaciones en la tasa de crecimiento por grano durante postfloración (Cirilo y Andrade, 1996; Borrás y Otegui, 2001). Para un cultivo dado, existe (i) uso aparente de reservas cuando $\text{RGC} > \text{CC}_{\text{LEG}}$ (i.e., $\text{UAR} > 0$), (ii) compensación entre el uso de reservas y el crecimiento del cultivo cuando $\text{RGC} = \text{CC}_{\text{LEG}}$ (i.e., $\text{UAR} = 0$), y (iii) acumulación aparente de reservas cuando $\text{RGC} < \text{CC}_{\text{LEG}}$ (i.e., $\text{UAR} < 0$).

El efecto del golpe de calor sobre el rendimiento y otras variables de estudio se estimó como la diferencia entre los valores computados para las parcelas de estrés y control.

3.2.2. Análisis estadístico

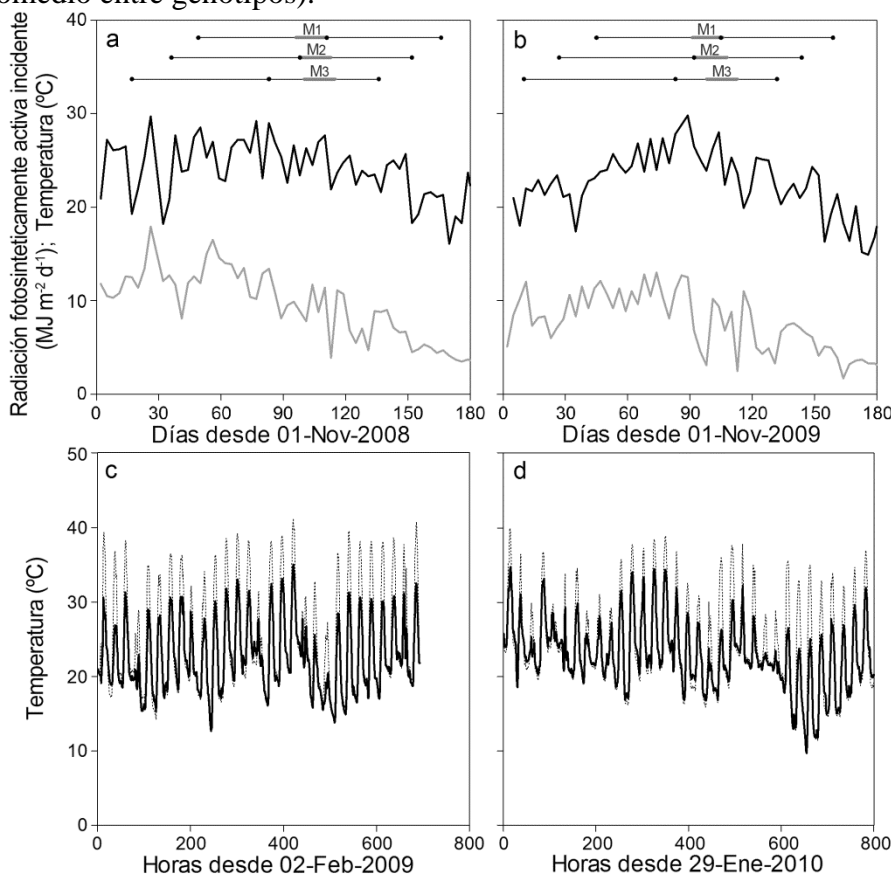
El efecto de los tratamientos y sus interacciones fue evaluado a través de los experimentos mediante análisis de varianza. Se realizó un test-t para analizar las diferencias entre medias, y análisis de regresión para evaluar las relaciones entre variables. El ajuste de los modelos se realizó mediante el paquete *nls* de R (R-Development-Core-Team, 2011).

3.3. Resultados

3.3.1. Condiciones de crecimiento y características del golpe de calor

Los años experimentales expusieron al cultivo a diferentes condiciones de crecimiento debido a la ocurrencia del evento *La Niña* durante la campaña 2008-2009 y *El Niño* durante la campaña 2009-2010. Consecuentemente, la temperatura media del aire y los niveles de RFA registrados entre noviembre y abril fueron mayores durante el Exp₁ (24 °C y 9.7 MJ m⁻² d⁻¹; figura 3.1a) que durante el Exp₂ (22.7 °C y 7.7 MJ m⁻² d⁻¹; figura 3.1b). Adicionalmente, las distintas fechas de siembra utilizadas para homogeneizar las características del estrés expusieron al cultivo a condiciones fototérmicas levemente diferentes. En general, retrasos en la fecha de siembra [i.e., M₁ (tardía) > M₂ (intermedia) > M₃ (temprana)] tendieron a reducir los niveles de RFA y temperatura del aire durante el PC y el LEG (cuadro 3.1). La RFA_{LEG} también fue afectada por cambios en la duración del llenado activo de grano (D_{LEG}) producto del golpe del calor. Las interacciones significativas observadas para D_{LEG} indicaron que este efecto fue más pronunciado cuando el estrés ocurrió durante M₃ y sobre el híbrido Te (reducción de -21 días en Exp₁ y -12 días en Exp₂ respecto al control; cuadro 3.1).

Figura 3.1. Radiación fotosintéticamente activa incidente (línea gris) y temperatura media del aire (línea negra) durante el ciclo del cultivo (a: Exp₁ y b: Exp₂) y evolución de la temperatura horaria del aire a la altura de la espiga promedio entre tratamientos control (línea llena) y de estrés (línea punteada) desde la fecha en que se instaló el primer calentamiento hasta la fecha de remoción del último calentamiento (c: Exp₁ y d: Exp₂). En (a) y (b), las barras horizontales indican el tiempo comprendido entre emergencia y madurez fisiológica y el período de calentamiento (M_n, promedio entre genotipos).



Cuadro 3.1. Fechas de siembra, duración de etapas y radiación fotosintéticamente activa incidente (RFA).

| Exp | M | H | RT | Fecha de siembra | Duración | | | RFA | | | |
|---|----------------|------|----------------|------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--------------------|--------|--------|-------------------------------------|
| | | | | | E-V ₁₅ | V ₁₅ -R ₆ | EGC V ₁₅ -R ₆ | PRE | POST | LEG | EGC V ₁₅ -R ₆ |
| | | | | | d | | | MJ m ⁻² | | | |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 22-12-08 | 38 | 70 | | 141 | 128 | 255 | |
| | | | T _E | 22-12-08 | 38 | 69 | -1 | 144 | 118 | 241 | -22 |
| | | TeTr | T _C | 22-12-08 | 38 | 71 | | 144 | 128 | 269 | |
| | | | T _E | 22-12-08 | 38 | 70 | -1 | 138 | 118 | 232 | -53 |
| | | Tr | T _C | 16-12-08 | 45 | 71 | | 140 | 121 | 274 | |
| | | | T _E | 16-12-08 | 45 | 77 | 5 | 144 | 115 | 283 | 7 |
| | M ₂ | Te | T _C | 09-12-08 | 39 | 70 | | 156 | 145 | 298 | |
| | | | T _E | 09-12-08 | 39 | 69 | -1 | 153 | 145 | 246 | -55 |
| | | TeTr | T _C | 09-12-08 | 39 | 67 | | 156 | 145 | 289 | |
| | | | T _E | 09-12-08 | 39 | 69 | 2 | 156 | 145 | 297 | 8 |
| | | Tr | T _C | 02-12-08 | 49 | 70 | | 142 | 133 | 302 | |
| | | | T _E | 02-12-08 | 49 | 70 | -1 | 143 | 134 | 305 | 5 |
| | M ₃ | Te | T _C | 20-11-08 | 42 | 66 | | 180 | 152 | 318 | |
| | | | T _E | 20-11-08 | 41 | 44 | -21 | 179 | 158 | 143 | -170 |
| | | TeTr | T _C | 20-11-08 | 41 | 69 | | 181 | 158 | 333 | |
| | | | T _E | 20-11-08 | 41 | 69 | 0 | 181 | 158 | 319 | -14 |
| | | Tr | T _C | 14-11-08 | 54 | 71 | | 175 | 140 | 342 | |
| | | | T _E | 14-11-08 | 55 | 66 | -5 | 170 | 140 | 292 | -54 |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 18-12-09 | 37 | 70 | | 107 | 114 | 225 | |
| | | | T _E | 18-12-09 | 37 | 64 | -6 | 110 | 104 | 184 | -49 |
| | | TeTr | T _C | 18-12-09 | 38 | 66 | | 106 | 113 | 213 | |
| | | | T _E | 18-12-09 | 38 | 68 | 2 | 112 | 97 | 201 | -23 |
| | | Tr | T _C | 11-12-09 | 46 | 72 | | 105 | 110 | 229 | |
| | | | T _E | 11-12-09 | 46 | 76 | 5 | 109 | 100 | 219 | -15 |
| | M ₂ | Te | T _C | 02-12-09 | 40 | 67 | | 163 | 103 | 244 | |
| | | | T _E | 02-12-09 | 41 | 64 | -3 | 158 | 104 | 215 | -33 |
| | | TeTr | T _C | 02-12-09 | 40 | 69 | | 163 | 103 | 256 | |
| | | | T _E | 02-12-09 | 39 | 66 | -3 | 164 | 108 | 232 | -18 |
| | | Tr | T _C | 20-11-09 | 55 | 66 | | 154 | 104 | 228 | |
| | | | T _E | 20-11-09 | 55 | 66 | 1 | 151 | 108 | 246 | 19 |
| | M ₃ | Te | T _C | 16-11-09 | 47 | 62 | | 164 | 139 | 229 | |
| | | | T _E | 16-11-09 | 47 | 50 | -12 | 164 | 137 | 156 | -76 |
| | | TeTr | T _C | 16-11-09 | 48 | 65 | | 162 | 132 | 240 | |
| | | | T _E | 16-11-09 | 48 | 60 | -5 | 162 | 135 | 216 | -21 |
| | | Tr | T _C | 02-11-09 | 64 | 63 | | 161 | 119 | 233 | |
| | | | T _E | 02-11-09 | 62 | 62 | -1 | 163 | 131 | 226 | 7 |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | | | | | | |
| Experimento (Exp) | | | | | 0.005 ^a | 0.045 | ns | 0.000 | 0.000 | <0.001 | 0.047 |
| Momento (M) | | | | | <0.001 | <0.001 | 0.002 | <0.001 | <0.001 | 0.001 | 0.003 |
| Híbrido (H) | | | | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.000 | <0.001 | <0.001 |
| Régimen térmico (RT) | | | | | ns | <0.001 | - | ns | ns | <0.001 | - |
| Exp × M | | | | | <0.001 | ns | ns | <0.001 | 0.006 | 0.044 | <0.001 |
| Exp × H | | | | | <0.001 | ns | ns | ns | 0.023 | 0.014 | 0.026 |
| M × H | | | | | <0.001 | <0.001 | 0.034 | 0.001 | 0.036 | <0.001 | 0.001 |
| M × RT | | | | | ns | <0.001 | - | ns | ns | <0.001 | - |
| H × RT | | | | | ns | <0.001 | - | ns | ns | <0.001 | - |
| Exp × M × H | | | | | 0.041 | ns | ns | ns | ns | ns | 0.009 |
| Exp × M × RT | | | | | ns | ns | - | ns | ns | 0.004 | - |
| M × H × RT | | | | | 0.010 | 0.016 | - | ns | ns | <0.001 | - |
| Exp × M × H × RT | | | | | ns | ns | - | ns | ns | 0.002 | - |

^a Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

EGC: efecto del golpe de calor; LEG: período comprendido entre R_2 y R_6 ; POST: período comprendido entre R_1 y R_2 ; PRE: período comprendido entre V_{15} y R_1 ; T_C : control; T_E : estrés por golpe de calor. Te: templado; Tr: tropical; TeTr: $T_E \times Tr$.

A pesar de estas fuentes de variación de las condiciones ambientales, la sincronización de las fechas de siembra permitió una muy buena coincidencia en la fecha de inicio de los tratamientos de temperatura, determinando que la intensidad del estrés dentro de cada experimento fuese similar entre todas las combinaciones de $M \times H$ (cuadro 3.2). El tiempo transcurrido entre la instalación del primer mini-invernáculo y el último fue de 14 días para el Exp_1 y 18 días para el Exp_2 . El tratamiento de estrés calórico incrementó la temperatura del aire a la altura de la espiga (figura 3.1c-d), dependiendo principalmente de la variación en los niveles de RFA ($T_{max} = 29.4 + 0.70 \text{ RFA}$, $r^2 = 0.58$, $P < 0.001$). Las mayores diferencias de temperatura entre las parcelas de estrés y control se registraron alrededor del mediodía (4.8 ± 1.7 °C entre las 11:00 y 16:00 hs), sin observarse diferencias importantes durante el resto del día (0.4 ± 0.7 °C; promedio entre todas las combinaciones de $Exp \times M \times H$). Consecuentemente, el tratamiento de estrés modificó el régimen térmico a través de incrementos en la temperatura máxima absoluta (30.2 ± 3.3 °C para T_C y 35.2 ± 3.5 °C para T_E), y en mucha menor medida a través de variaciones en la temperatura media diaria (23.4 ± 1.3 °C para T_C y 24.7 ± 0.9 °C para T_E ; temperatura del aire promedio durante el período de tratamiento).

Cuadro 3.2. Características del golpe de calor en ambos experimentos.

| Experimento | Momento | Híbrido | Tmax (°C) | TAE (°C h) | |
|---|----------------|---------|-------------------------|------------|-----------|
| | | | | To= 33 °C | To= 35 °C |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | 36.1 ± 0.1 ^a | 144 ± 36 | 88 ± 21 |
| | | TeTr | 37.4 ± 0.2 | 210 ± 63 | 126 ± 10 |
| | | Tr | 34.0 ± 0.2 | 71 ± 35 | 21 ± 15 |
| | M ₂ | Te | 36.6 ± 0.8 | 236 ± 52 | 113 ± 35 |
| | | TeTr | 36.6 ± 1.6 | 228 ±125 | 117 ± 86 |
| | | Tr | 35.8 ± 0.9 | 190 ± 67 | 90 ± 36 |
| | M ₃ | Te | 36.3 ± 0.5 | 254 ± 76 | 100 ± 63 |
| | | TeTr | 35.7 ± 0.8 | 189 ± 62 | 86 ± 44 |
| | | Tr | 37.1 ± 1.1 | 290 ± 90 | 190 ± 73 |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | 35.6 ± 0.5 | 107 ± 21 | 50 ± 7 |
| | | TeTr | 36.2 ± 1.7 | 107 ± 49 | 47 ± 29 |
| | | Tr | 35.9 ± 0.4 | 146 ±119 | 86 ±113 |
| | M ₂ | Te | 33.9 ± 0.4 | 111 ± 30 | 34 ± 27 |
| | | TeTr | 34.9 ± 2.0 | 145 ± 53 | 73 ± 29 |
| | | Tr | 35.5 ± 1.8 | 129 ± 81 | 41 ± 56 |
| | M ₃ | Te | 33.3 ± 0.6 | 84 ± 21 | 25 ± 11 |
| | | TeTr | 34.1 ± 0.8 | 100 ± 13 | 33 ± 9 |
| | | Tr | 33.8 ± 0.1 | 71 ± 23 | 19 ± 2 |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | |
| Experimento (Exp) | | | 0.013 ^b | 0.024 | ns |
| Momento (M) | | | ns | ns | ns |
| Híbrido (H) | | | ns | ns | ns |
| Exp × M | | | ns | 0.034 | 0.032 |
| Exp × H | | | ns | ns | ns |
| M × H | | | ns | ns | ns |
| Exp × M × H | | | ns | ns | ns |

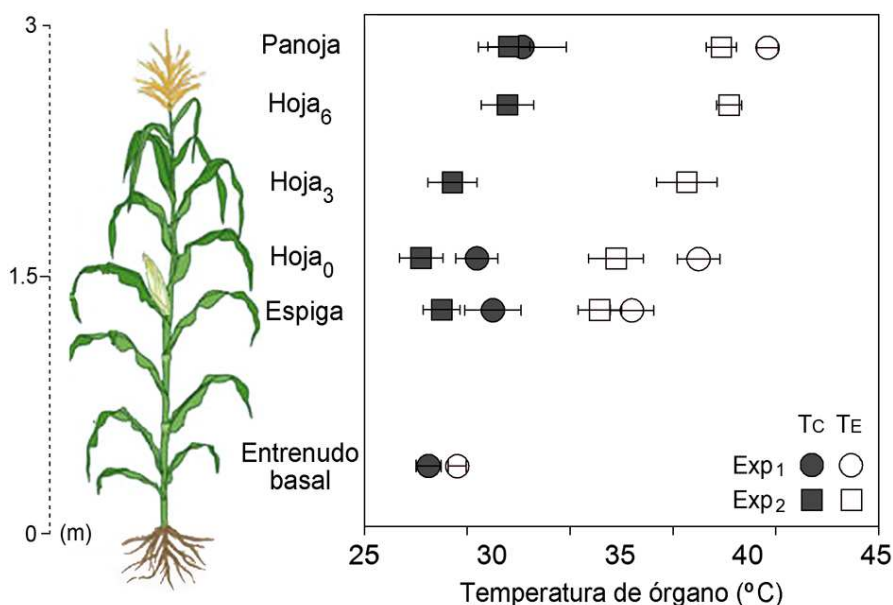
^a Promedio \pm desvío estándar

^b Valor P de los efectos simples e interacciones; ns: no significativo ($P > 0.05$).

TAE: temperatura acumulada de estrés; Tmax: temperatura máxima promedio del aire a la altura de la espiga; T_C: control; T_E: estrés por golpe de calor; Te: templado; To: temperatura óptima; Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr.

Los calentamientos causaron un incremento gradual de la temperatura de órganos a lo largo del canopeo (figura 3.2), sin encontrarse diferencias significativas ($P > 0.05$) entre fechas de siembra e híbridos. Los órganos más elevados, como la panoja y las hojas superiores, registraron incrementos térmicos mayores que los órganos posicionados próximos a la superficie del suelo (i.e., entrenudos basales).

Figura 3.2. Temperatura de órganos en los tratamientos control (símbolos llenos) y de estrés (símbolos vacíos) durante dos años experimentales (Exp₁: círculos; Exp₂: cuadrados). Cada símbolo corresponde al promedio de 27 datos (tres momentos, tres híbridos y tres repeticiones). Las barras horizontales representan el intervalo de confianza del 95%. La temperatura del aire a la altura de la espiga en los tratamientos de estrés durante el momento de medición fue de 39.1 °C en el Exp₁ y 36.6 °C en el Exp₂. La altura de la planta representa el promedio de todas las combinaciones de tratamiento.



3.3.2. Área foliar e intercepción de radiación

El IAF_{R1} difirió significativamente ($P < 0.001$) entre años experimentales e híbridos, sin encontrarse efectos del golpe de calor sobre esta variable (cuadro 3.3). Los mayores valores de IAF_{R1} correspondieron al híbrido Tr (10.4 en Exp₁ y 8.2 en Exp₂; promediando entre M \times RT), superando a aquellos valores registrados para los genotipos Te (8.8 en Exp₁ y 7.8 en Exp₂) y TeTr (8.7 en Exp₁ y 8.1 en Exp₂). Los valores de IAF_{R1} observados en todas las combinaciones de tratamientos fueron siempre superiores a 6 (entre 6.7 y 10.6), garantizando elevados niveles de intercepción de radiación durante el período crítico (i.e., fRFAi_{PRE} y fRFAi_{POST} ≥ 0.95 ; cuadro 3.3). No se registraron efectos de los genotipos y los regímenes térmicos sobre la fRFAi_{PRE} y la fRFAi_{POST}.

Cuadro 3.3. Índice de área foliar (IAF) y fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada por el cultivo (fRFAi) en diferentes momentos del ciclo.

| Exp | M | H | RT | IAF | | fRFAi | | | EGC V ₁₅ -R ₆ | |
|---|------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|-------|--------|--------|--|------|
| | | | | R ₁ | R ₈ | PRE | POST | LEG | | |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 9.3 | 2.9 | 0.97 | 0.99 | 0.98 | | |
| | | | T _E | 9.1 | 2.8 | 0.97 | 0.98 | 0.97 | -0.01 | |
| | | TeTr | T _C | 8.7 | 2.0 | 0.97 | 0.99 | 0.97 | | |
| | | | T _E | 8.4 | 1.6 | 0.96 | 0.99 | 0.97 | 0.00 | |
| | | Tr | T _C | 10.6 | 2.9 | 0.98 | 0.99 | 0.99 | | |
| | | | T _E | 10.6 | 3.2 | 0.98 | 0.99 | 0.99 | 0.00 | |
| | M ₂ | Te | T _C | 8.7 | 5.2 | 0.97 | 0.98 | 0.97 | | |
| | | | T _E | 8.6 | 7.1 | 0.99 | 0.99 | 0.97 | 0.00 | |
| | | TeTr | T _C | 8.8 | 4.6 | 0.98 | 0.98 | 0.97 | | |
| | | | T _E | 8.8 | 5.1 | 0.98 | 0.98 | 0.97 | 0.00 | |
| | | Tr | T _C | 10.3 | 5.8 | 0.98 | 0.98 | 0.97 | | |
| | | | T _E | 10.4 | 4.9 | 0.97 | 0.97 | 0.97 | 0.00 | |
| | M ₃ | Te | T _C | 8.7 | 5.1 | 0.98 | 0.98 | 0.96 | | |
| | | | T _E | 8.5 | 7.9 | 0.98 | 0.97 | 0.95 | -0.01 | |
| | | TeTr | T _C | 8.7 | 5.1 | 0.97 | 0.96 | 0.95 | | |
| | | | T _E | 8.8 | 5.1 | 0.97 | 0.95 | 0.94 | -0.01 | |
| | | Tr | T _C | 10.4 | 6.0 | 0.97 | 0.97 | 0.96 | | |
| | | | T _E | 10.0 | 4.7 | 0.98 | 0.96 | 0.94 | -0.01 | |
| | Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 8.4 | 5.5 | 0.98 | 0.98 | 0.98 | |
| | | | | T _E | 7.8 | 5.0 | 0.98 | 0.98 | 0.98 | 0.00 |
| TeTr | | | T _C | 6.7 | 5.0 | 0.98 | 0.98 | 0.98 | | |
| | | | T _E | 8.4 | 4.9 | 0.98 | 0.98 | 0.96 | -0.01 | |
| Tr | | | T _C | 8.5 | 5.4 | 0.97 | 0.97 | 0.97 | | |
| | | | T _E | 7.7 | 4.8 | 0.98 | 0.98 | 0.97 | 0.00 | |
| M ₂ | | Te | T _C | 8.0 | 5.1 | 0.95 | 0.96 | 0.96 | | |
| | | | T _E | 7.6 | 5.4 | 0.97 | 0.97 | 0.96 | 0.00 | |
| | | TeTr | T _C | 8.8 | 4.9 | 0.96 | 0.96 | 0.97 | | |
| | | | T _E | 9.0 | 4.7 | 0.97 | 0.97 | 0.97 | 0.00 | |
| | | Tr | T _C | 8.1 | 6.2 | 0.97 | 0.97 | 0.96 | | |
| | | | T _E | 8.4 | 5.2 | 0.96 | 0.97 | 0.97 | 0.01 | |
| M ₃ | | Te | T _C | 7.8 | 4.5 | 0.97 | 0.98 | 0.97 | | |
| | | | T _E | 7.4 | 4.1 | 0.97 | 0.98 | 0.97 | 0.00 | |
| | | TeTr | T _C | 8.5 | 4.2 | 0.97 | 0.97 | 0.96 | | |
| | | | T _E | 7.1 | 3.3 | 0.98 | 0.97 | 0.96 | 0.00 | |
| | | Tr | T _C | 7.6 | 6.0 | 0.95 | 0.97 | 0.96 | | |
| | | | T _E | 8.9 | 6.3 | 0.95 | 0.97 | 0.95 | -0.01 | |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | | | | | |
| Experimento (Exp) | | | | <0.001 ^a | ns | ns | 0.023 | ns | ns | |
| Momento (M) | | | | ns | <0.001 | ns | <0.001 | <0.001 | ns | |
| Híbrido (H) | | | | <0.001 | <0.001 | ns | ns | ns | ns | |
| Régimen térmico (RT) | | | | ns | ns | ns | ns | ns | - | |
| Exp × M | | | | ns | <0.001 | ns | <0.001 | 0.003 | ns | |
| Exp × H | | | | <0.001 | ns | ns | ns | ns | ns | |
| M × H | | | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| M × RT | | | | ns | ns | ns | ns | ns | - | |
| H × RT | | | | ns | ns | ns | ns | ns | - | |
| Exp × M × H | | | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | |
| Exp × M × RT | | | | ns | ns | ns | ns | ns | - | |
| M × H × RT | | | | ns | ns | ns | ns | ns | - | |
| Exp × M × H × RT | | | | ns | ns | ns | ns | ns | - | |

^a Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

EGC: efecto del golpe de calor; LEG: período comprendido entre R_2 y R_6 ; POST: período comprendido entre R_1 y R_2 ; PRE: período comprendido entre V_{15} y R_1 ; Tc: control; T_E: estrés por golpe de calor; T_e: templado; Tr: tropical; TeTr: T_e × Tr.

El golpe de calor tampoco tuvo efectos sobre el índice de área foliar a madurez fisiológica (cuadro 3.3). La mayor parte de la variación observada en el IAF_{R6} estuvo asociada a diferencias en fechas de siembra. En general, la senescencia foliar en postfloración fue mayor para la fecha tardía (i.e. M_1), pero la magnitud de dicho efecto difirió entre experimentos (interacción Exp × M significativa; cuadro 3.3). A pesar de los distintos niveles de IAF_{R6} entre fechas de siembra, la $fRFAi_{LEG}$ se mantuvo próximo a los niveles observados durante el período crítico ($fRFAi_{LEG}$ varió entre 0.94 y 0.99; cuadro 3.3).

3.3.3. Producción de biomasa y eficiencia en el uso de la radiación

La TCC alrededor de floración y durante el llenado efectivo de granos difirió significativamente ($P < 0.003$) entre experimentos en las parcelas control, pero no entre fechas de siembra e híbridos (cuadro 3.4). El golpe de calor redujo la TCC en cada período de calentamiento estudiado (i.e., TCC_{PRE} en M_1 , TCC_{POST} en M_2 , y TCC_{LEG} en M_3 ; cuadro 3.4; $P < 0.001$), siendo más afectada cuando el estrés ocurrió durante M_2 ($-31.7 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ respecto al control; promedio entre experimentos e híbridos), que durante M_1 ($-21.7 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) y M_3 ($-13.6 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Adicionalmente, los genotipos mostraron diferente respuesta al golpe de calor para esta variable. El híbrido Te tendió a presentar mayores caídas de TCC ($Te \geq Tr \geq TeTr$), pero la magnitud de este efecto varió entre períodos de calentamiento. El golpe de calor durante el período crítico redujo en mayor medida la TCC_{PRE} y TCC_{POST} de los híbridos Te ($-25.6 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en TCC_{PRE} y de $-37.3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en TCC_{POST} respecto al control; promedio entre experimentos) y Tr ($-24.6 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en TCC_{PRE} y $-31.1 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en TCC_{POST}) que del híbrido TeTr ($-15 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en TCC_{PRE} y $-26.8 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en TCC_{POST}). Mientras que el golpe de calor durante el llenado efectivo de granos tuvo un mayor efecto sobre la TCC_{LEG} del híbrido Te ($-25.4 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) que sobre la TCC_{LEG} de los genotipos Tr y TeTr (-11 y $-4.5 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, respectivamente).

Una vez removido el estrés, las plantas sujetas a golpes de calor alrededor de floración (i.e., M_1 y M_2) recuperaron su crecimiento, alcanzando valores de TCC similares a los observados en las plantas no estresadas (cuadro 3.4). Sin embargo, la magnitud de este efecto no permitió recuperar las pérdidas de biomasa producidas durante el período de estrés. Consecuentemente, la biomasa del cultivo a madurez fisiológica fue significativamente reducida ($P < 0.01$; cuadro 3.5) en todas las parcelas calentadas, a excepción del híbrido TeTr calentado durante M_3 (figura 3.3h). La interacción H × RT significativa ($P < 0.05$) detectada para esta variable indicó que (i) la biomasa final del cultivo en las parcelas control fue levemente superior en el híbrido Tr (2564 g m^{-2} ; promedio entre experimentos y momentos de incidencia) respecto a la biomasa final de los híbridos Te y TeTr (2388 y 2372 g m^{-2} , respectivamente), y que (ii) el estrés afectó en mayor medida la biomasa final del híbrido Te (-603 g m^{-2} respecto al control) que la biomasa final de los genotipos Tr (-489 g m^{-2}) y TeTr (-373 g m^{-2}). No hubo diferencias en la respuesta al calentamiento entre los momentos de incidencia para esta variable.

Cuadro 3.4. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y eficiencia en el uso de la radiación (EUR) en distintas etapas del ciclo.

| Exp | M | H | RT | TCC | | | | EUR | | | |
|---|----------------|------|----------------|-----------------------------------|--------|--------|-------------------------------------|--------------------|--------|--------|--|
| | | | | PRE | POST | LEG | EGC durante el período de estrés | PRE | POST | EGF | EGC V ₁₅ -R ₈ |
| | | | | g m ⁻² d ⁻¹ | | | | g MJ ⁻¹ | | | |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 49.0 | 53.7 | 7.5 | | 5.4 | 6.4 | 1.1 | |
| | | | T _E | 21.7 | 39.4 | 16.0 | -27.2 | 2.4 | 5.1 | 2.4 | -1.0 |
| | | TeTr | T _C | 31.9 | 43.5 | 19.2 | | 3.5 | 5.2 | 3.0 | |
| | | | T _E | 22.8 | 22.4 | 19.8 | -9.0 | 2.6 | 2.9 | 3.1 | -1.0 |
| | | Tr | T _C | 43.7 | 36.0 | 12.8 | | 4.8 | 4.5 | 2.0 | |
| | | | T _E | 16.6 | 24.9 | 19.2 | -27.1 | 1.8 | 3.3 | 3.1 | -1.0 |
| | M ₂ | Te | T _C | 44.4 | 54.8 | 3.0 | | 4.4 | 5.8 | 0.4 | |
| | | | T _E | 40.9 | 9.2 | 4.5 | -45.6 | 4.1 | 1.0 | 0.6 | -1.7 |
| | | TeTr | T _C | 56.7 | 33.9 | 5.0 | | 5.6 | 3.6 | 0.7 | |
| | | | T _E | 55.1 | 0.1 | 11.4 | -33.8 | 5.4 | 0.0 | 1.5 | -1.0 |
| | | Tr | T _C | 46.7 | 18.5 | 12.4 | | 5.0 | 2.1 | 1.7 | |
| | | | T _E | 47.4 | -13.9 | 10.1 | -32.3 | 5.1 | -1.6 | 1.5 | -1.3 |
| | M ₃ | Te | T _C | 43.1 | 31.9 | 21.9 | | 3.7 | 4.8 | 2.6 | |
| | | | T _E | 45.5 | 34.7 | -8.5 | -30.3 | 3.9 | 5.0 | -0.8 | -1.6 |
| | | TeTr | T _C | 49.2 | 40.7 | 18.9 | | 4.2 | 5.8 | 2.4 | |
| | | | T _E | 50.4 | 38.9 | 14.5 | -4.5 | 4.3 | 5.8 | 1.9 | -0.1 |
| | | Tr | T _C | 40.3 | 21.1 | 16.1 | | 3.5 | 4.2 | 2.1 | |
| | | | T _E | 38.9 | 21.2 | 1.9 | -14.2 | 3.5 | 4.2 | 0.1 | -0.6 |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 42.1 | 26.2 | 20.7 | | 6.0 | 4.0 | 3.7 | |
| | | | T _E | 18.0 | 28.0 | 22.6 | -24.1 | 2.5 | 4.2 | 3.8 | -1.1 |
| | | TeTr | T _C | 31.5 | 32.9 | 25.4 | | 4.5 | 4.5 | 4.4 | |
| | | | T _E | 10.5 | 33.3 | 17.6 | -21.0 | 1.4 | 5.3 | 3.0 | -1.2 |
| | | Tr | T _C | 35.2 | 27.4 | 27.0 | | 5.2 | 4.2 | 5.0 | |
| | | | T _E | 13.2 | 22.2 | 22.0 | -22.0 | 1.9 | 3.4 | 4.0 | -1.7 |
| | M ₂ | Te | T _C | 33.9 | 30.7 | 12.4 | | 3.3 | 4.7 | 2.0 | |
| | | | T _E | 31.6 | 1.6 | 13.4 | -29.1 | 3.1 | 0.3 | 2.1 | -1.5 |
| | | TeTr | T _C | 35.9 | 25.8 | 15.0 | | 3.4 | 3.9 | 2.4 | |
| | | | T _E | 34.6 | 6.0 | 10.4 | -19.8 | 3.3 | 0.9 | 1.6 | -1.3 |
| | | Tr | T _C | 31.7 | 15.7 | 20.8 | | 3.2 | 2.3 | 3.3 | |
| | | | T _E | 32.5 | -14.2 | 19.2 | -29.8 | 3.4 | -2.0 | 3.0 | -1.5 |
| | M ₃ | Te | T _C | 33.4 | 29.7 | 20.2 | | 3.1 | 3.3 | 3.0 | |
| | | | T _E | 35.4 | 33.2 | 0.4 | -19.8 | 3.3 | 3.7 | 0.0 | -0.8 |
| | | TeTr | T _C | 39.5 | 24.1 | 15.5 | | 3.8 | 2.8 | 2.3 | |
| | | | T _E | 40.6 | 20.9 | 9.8 | -5.7 | 3.8 | 2.4 | 1.4 | -0.4 |
| | | Tr | T _C | 27.7 | 20.7 | 20.4 | | 2.7 | 2.7 | 3.1 | |
| | | | T _E | 32.5 | 20.7 | 12.9 | -7.5 | 3.2 | 2.4 | 1.9 | -0.3 |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | | | | | | |
| Experimento (Exp) | | | | 0.003 ^a | <0.001 | 0.000 | 0.016 | 0.003 | 0.000 | <0.001 | ns |
| Momento (M) | | | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.002 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Híbrido (H) | | | | ns | <0.001 | 0.007 | <0.001 | ns | <0.001 | 0.005 | 0.020 |
| Régimen térmico (RT) | | | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | - | <0.001 | <0.001 | <0.001 | - |
| Exp × M | | | | 0.002 | <0.001 | 0.023 | ns | <0.001 | <0.001 | ns | ns |
| Exp × H | | | | ns | 0.010 | ns | 0.026 | ns | ns | ns | ns |
| Exp × RT | | | | ns | <0.001 | ns | - | ns | ns | ns | - |
| M × H | | | | <0.001 | 0.017 | ns | 0.020 | <0.001 | 0.002 | ns | 0.049 |
| M × RT | | | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | - | <0.001 | <0.001 | <0.001 | - |
| H × RT | | | | ns | ns | ns | - | ns | ns | ns | - |
| Exp × M × H | | | | ns | 0.001 | ns | ns | ns | 0.020 | ns | ns |
| Exp × M × RT | | | | ns | 0.001 | 0.008 | - | 0.003 | 0.002 | 0.028 | - |
| M × H × RT | | | | 0.005 | 0.024 | <0.001 | - | ns | ns | 0.001 | - |

^a Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

EGC: efecto del golpe de calor; LEG: período comprendido entre R_2 y R_6 ; POST: período comprendido entre R_1 y R_2 ; PRE: período comprendido entre V_{15} y R_1 ; Tc: control; T_E: estrés por golpe de calor; Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr.

Los efectos negativos del golpe de calor sobre la producción de biomasa no estuvieron asociados a reducciones en la captura de radiación, según lo indican los valores similares de IAF, fRFAi y RFAi (cuadro 3.3 y figura 3.3) observados entre las parcelas de estrés y control. La única excepción clara fue el híbrido Te calentado durante M_3 (cuadro 3.3 y figura 3.3g), el cual mostró una importante reducción de la RFAi_{LEG} producto del fuerte acortamiento del período de llenado de granos. El efecto principal del golpe de calor sobre la producción de biomasa se debió principalmente a caídas en la EUR durante el período de calentamiento (i.e., EUR_{PRE} en M_1 , EUR_{POST} en M_2 , y EUR_{LEG} en M_3 ; cuadro 3.4; $P < 0.001$). El efecto negativo de la temperatura supraóptima sobre la EUR fue mayor cuando el estrés fue aplicado durante M_2 (-4 g MJ^{-1} respecto al control; promedio entre experimentos e híbridos), que durante los períodos de calentamiento restantes (-2.8 g MJ^{-1} en M_1 y -1.8 g MJ^{-1} en M_3). Los híbridos difirieron en la respuesta al estrés, siguiendo tendencias similares a la descrita para la TCC. El golpe de calor alrededor de floración afectó en mayor medida la EUR de los híbridos Te y Tr. Mientras que la incidencia de temperaturas supraóptimas durante el llenado efectivo de granos tuvo un mayor efecto sobre la EUR del genotipo Te (cuadro 3.4).

La EUR de plantas no estresadas tendió a ser mayor durante el período crítico para la fijación de granos (4.2 g MJ^{-1} para la EUR_{PRE} y 3.8 g MJ^{-1} para la EUR_{POST}; promedio de todas las parcelas control) que durante el llenado efectivo de grano (2.5 g MJ^{-1} para la EUR_{LEG}), sin encontrarse diferencias genotípicas para estas variables. La EUR durante el período crítico presentó un amplio rango de variación (entre 2.1 y 6.4 g MJ^{-1} a lo largo de todas las parcelas control) cuando este rasgo fue computado en subperíodos (i.e., como el cociente entre el incremento de biomasa y la RFAi acumulada durante los períodos PRE y POST). Dicha variación en los valores de EUR se redujo (varió entre 2.6 y 5.7 g MJ^{-1} ; valores no mostrados) cuando este rasgo se estimó para todo el período crítico (i.e., como la pendiente de la relación entre la biomasa acumulada y la RFAi acumulada durante el período crítico).

3.3.4. Rendimiento en grano e índice de cosecha

El RGC en las parcelas control fue mayor en el Exp₁ (971 g m^{-2} ; promedio de todas las parcelas control) que en el Exp₂ (811 g m^{-2}). La interacción Exp \times M \times RT significativa ($P = 0.003$) detectada para esta variable indicó que el RGC fue similar entre fechas de siembra durante el Exp₁, pero no durante el Exp₂. Para este último, el RGC registrado en la fecha de siembra intermedia (584 g m^{-2} en M_2 ; promedio de parcelas control entre híbridos) fue menor que aquel observado en las restantes fechas de siembra (864 g m^{-2} en M_1 y 986 g m^{-2} en M_3). No existieron diferencias estadísticas entre genotipos para esta variable.

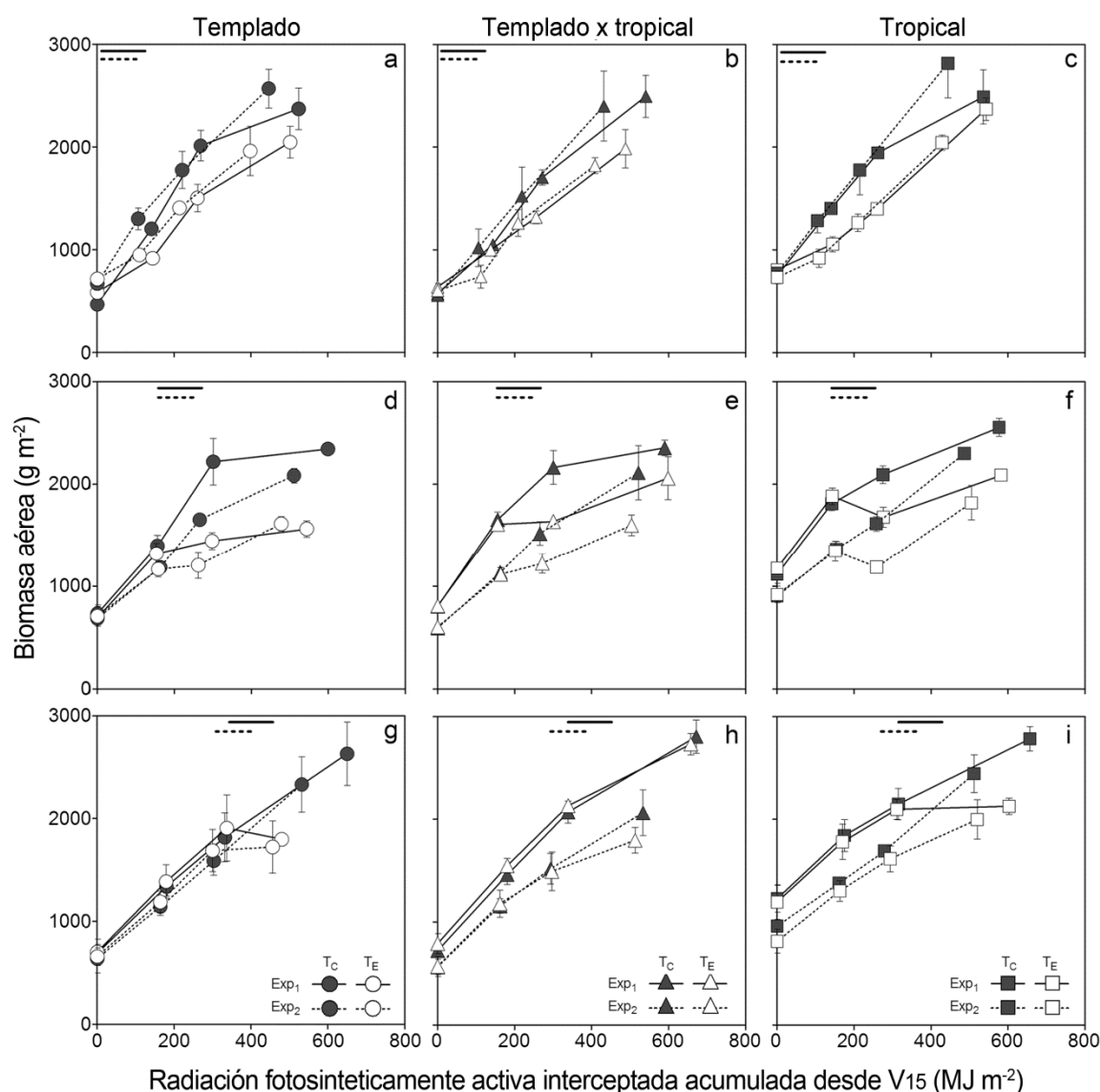
Cuadro 3.5. Biomasa aérea final, rendimiento en grano (RGC) e índice de cosecha (IC) del cultivo.

| Exp | M | H | RT | Biomasa aérea final | EGC | RGC | EGC | IC | EGC | |
|---|------------------|----------------|----------------|------------------------|-------|--------|-------|--------|--------|-------|
| | | | | g m ⁻² | | | | | | |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 2371 | | 967 | | 0.41 | | |
| | | | T _E | 2047 | -324 | 379 | -587 | 0.18 | -0.23 | |
| | | TeTr | T _C | 2496 | | 980 | | 0.39 | | |
| | | | T _E | 1985 | -511 | 357 | -623 | 0.18 | -0.21 | |
| | | Tr | T _C | 2490 | | 884 | | 0.35 | | |
| | | | T _E | 2370 | -120 | 887 | 3 | 0.37 | 0.02 | |
| | M ₂ | Te | T _C | 2344 | | 847 | | 0.36 | | |
| | | | T _E | 1566 | -778 | 51 | -797 | 0.03 | -0.33 | |
| | | TeTr | T _C | 2355 | | 893 | | 0.38 | | |
| | | | T _E | 2060 | -295 | 339 | -554 | 0.15 | -0.22 | |
| | | Tr | T _C | 2554 | | 883 | | 0.35 | | |
| | | | T _E | 2089 | -465 | 417 | -466 | 0.19 | -0.16 | |
| | M ₃ | Te | T _C | 2629 | | 1132 | | 0.43 | | |
| | | | T _E | 1799 | -830 | 449 | -683 | 0.25 | -0.18 | |
| | | TeTr | T _C | 2804 | | 1143 | | 0.41 | | |
| | | | T _E | 2731 | -73 | 976 | -167 | 0.36 | -0.05 | |
| | | Tr | T _C | 2782 | | 1009 | | 0.36 | | |
| | | | T _E | 2127 | -656 | 466 | -544 | 0.22 | -0.14 | |
| | Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 2568 | | 998 | | 0.39 | |
| | | | | T _E | 1960 | -607 | 228 | -770 | 0.12 | -0.27 |
| TeTr | | | T _C | 2401 | | 886 | | 0.37 | | |
| | | | T _E | 1822 | -579 | 317 | -569 | 0.17 | -0.19 | |
| Tr | | | T _C | 2816 | | 1075 | | 0.38 | | |
| | | | T _E | 2044 | -772 | 461 | -614 | 0.22 | -0.16 | |
| M ₂ | | Te | T _C | 2085 | | 506 | | 0.24 | | |
| | | | T _E | 1616 | -469 | 74 | -432 | 0.04 | -0.20 | |
| | | TeTr | T _C | 2112 | | 613 | | 0.28 | | |
| | | | T _E | 1601 | -510 | 29 | -584 | 0.02 | -0.27 | |
| | | Tr | T _C | 2299 | | 634 | | 0.26 | | |
| | | | T _E | 1821 | -478 | 198 | -436 | 0.11 | -0.16 | |
| M ₃ | | Te | T _C | 2332 | | 923 | | 0.40 | | |
| | | | T _E | 1724 | -608 | 599 | -324 | 0.35 | -0.04 | |
| | | TeTr | T _C | 2063 | | 792 | | 0.38 | | |
| | | | T _E | 1796 | -267 | 650 | -143 | 0.36 | -0.02 | |
| | | Tr | T _C | 2443 | | 876 | | 0.36 | | |
| | | | T _E | 1998 | -445 | 626 | -249 | 0.31 | -0.04 | |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | | | | | |
| Experimento (Exp) | | | | 0.013 ^a | ns | 0.016 | ns | ns | ns | |
| Momento (M) | | | | 0.015 | ns | 0.000 | 0.007 | <0.001 | <0.001 | |
| Híbrido (H) | | | | <0.001 | 0.030 | 0.004 | 0.003 | 0.048 | <0.001 | |
| Régimen térmico (RT) | | | | <0.001 | - | <0.001 | - | <0.001 | - | |
| Exp × M | | | | ns | ns | ns | 0.003 | 0.008 | 0.007 | |
| Exp × H | | | | 0.001 | ns | 0.029 | ns | ns | ns | |
| Exp × RT | | | | ns | - | ns | - | ns | - | |
| M × H | | | | 0.039 | 0.048 | 0.001 | 0.011 | 0.001 | 0.001 | |
| M × RT | | | | ns | - | 0.011 | - | <0.001 | - | |
| H × RT | | | | 0.043 | - | 0.007 | - | 0.001 | - | |
| Exp × M × H | | | | ns | ns | ns | 0.023 | ns | ns | |
| Exp × M × RT | | | | ns | - | 0.003 | - | 0.018 | - | |
| M × H × RT | | | | ns | - | 0.029 | - | 0.004 | - | |

^a Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

EGC: efecto del golpe de calor; T_C : control; T_E : estrés por golpe de calor; Te: templado; Tr: tropical; TeTr: $T_E \times Tr$.

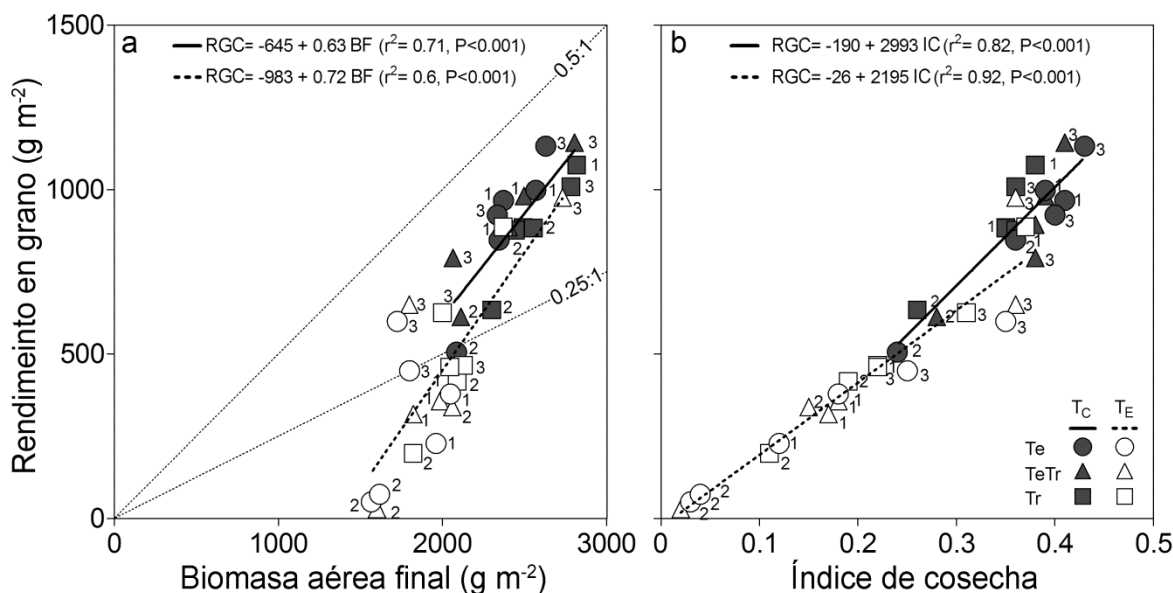
Figura 3.3. Relación entre la producción de biomasa aérea y la radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada desde V_{15} hasta madurez fisiológica en híbridos de maíz de fondo genético contrastante sometidos a dos regímenes térmicos (T_C : control; T_E : golpe de calor) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M_1 : a-c; M_2 : d-f; M_3 : g-i) y dos años experimentales (Exp_n). Las barras de error indican el desvío estándar de la media y las horizontales representan el período de calentamiento.



El golpe de calor redujo el RGC ($P < 0.001$; cuadro 3.5) en la mayor parte de las parcelas de estrés. Los efectos de interacción detectados para esta variable indicaron que (i) el RGC fue más severamente afectado por golpes de calor durante el período crítico (-527 g m^{-2} en M_1 y -545 g m^{-2} en M_2 respecto al control; promedio entre experimentos e híbridos) que durante el llenado efectivo de granos (-352 g m^{-2} en M_3), (ii) el híbrido Te fue el genotipo más sensible al estrés térmico (-599 g m^{-2} ; promedio entre experimentos y momentos de incidencia), seguido por los híbridos

TeTr (-440 g m^{-2}) y Tr (-384 g m^{-2}), y (iii) en ambos años experimentales, las mayores caídas del RGC correspondieron al híbrido Te (-797 g m^{-2} en Exp₁ y -770 g m^{-2} en Exp₂; cuadro 3.5). La variación observada en RGC fue satisfactoriamente explicada por cambios en la biomasa aérea del cultivo a madurez fisiológica ($r^2 = 0.81$). Sin embargo, el estrés térmico afectó la relación entre dichas variables (figura 3.4a), determinando que las variaciones del RGC asociadas exclusivamente al golpe de calor fuesen mejor explicadas por cambios en el índice de cosecha ($r^2 = 0.92$; figura 3.4b) que por cambios en la biomasa aérea final ($r^2 = 0.6$; figura 3.4a). El golpe de calor afectó considerablemente el índice de cosecha ($P < 0.001$; cuadro 3.5). La magnitud de dicho efecto varió con el momento de incidencia y la sensibilidad de los genotipos. El índice de cosecha fue severamente reducido por golpes de calor alrededor de floración, especialmente en los híbridos Te (-0.25 en M₁ y -0.25 en M₂ respecto al control; promedio entre experimentos) y TeTr (-0.21 en M₁ y -0.24 en M₂). El híbrido Tr fue el genotipo con menor sensibilidad a los calentamientos próximos a floración (-0.07 en M₁ y -0.15 en M₂). La incidencia del golpe de calor durante el llenado de grano tuvo un menor efecto sobre el índice de cosecha que en etapas previas del cultivo, afectando en mayor medida a los híbridos Te (-0.11) y Tr (-0.11) que al híbrido TeTr (-0.02).

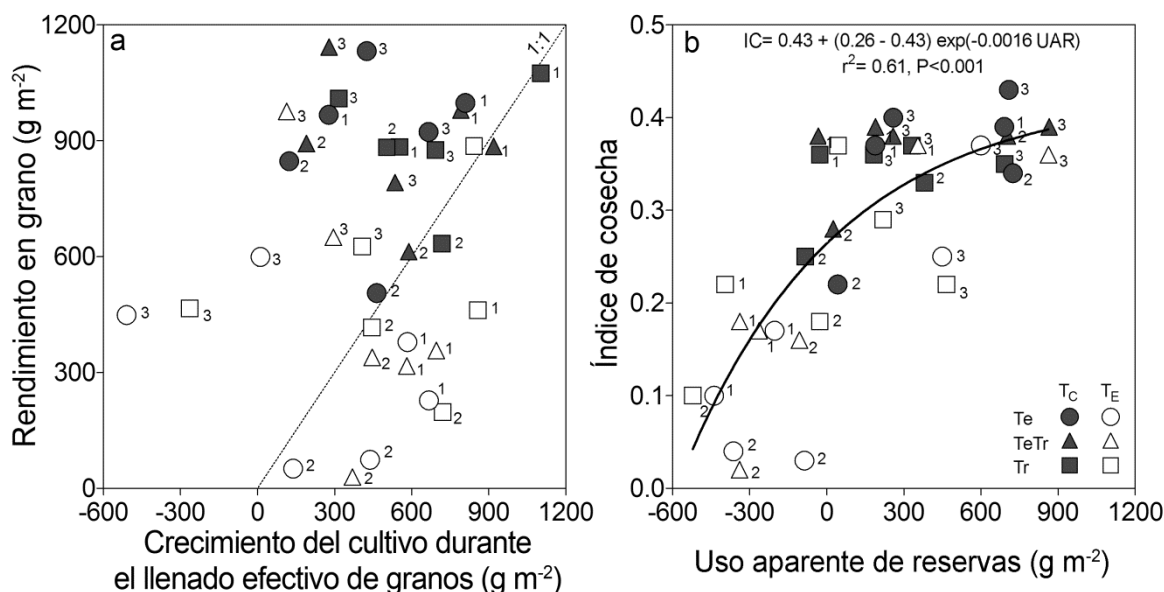
Figura 3.4. Relación entre el rendimiento en grano del cultivo (RGC) y (a) la biomasa aérea final (BF), o (b) el índice de cosecha (IC). Los datos corresponden a tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado, Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr) sometidos a dos regímenes térmicos (T_C: control, T_E: golpe de calor) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M₁: 1, M₂: 2; M₃: 3) y dos años experimentales. Las líneas en la figura (a) representan la relación 0.25:1 y 0.5:1 entre el rendimiento y la biomasa final. Las ecuaciones representan modelos ajustados a cada régimen térmico.



La variación observada en el índice de cosecha fue analizada en términos de la contribución aparente de reservas al rendimiento en grano (i.e., $UAR = RG - CC_{LEG}$; figura 3.5). El UAR en los tratamientos control fue de 274 g m^{-2} (promedio de parcelas control entre experimentos), no habiendo diferencia entre híbridos y momentos de incidencia. Esta variable fue siempre negativa para parcelas calentadas alrededor de floración (-266 g m^{-2} en M₁ y -241 g m^{-2} en M₂, promedio de parcelas de estrés entre experimentos e híbridos) y, por lo tanto, esos casos estuvieron

generalmente distribuidos por debajo de la relación 1:1 (figura 3.5a). Por su parte, las parcelas estresadas durante el llenado efectivo de granos incrementaron notablemente el uso aparente de reservas respecto a las parcelas control, mostrando siempre valores positivos de UAR (423 g m⁻²; figura 3.5b). Incluso, en algunas parcelas de los híbridos Te y Tr calentadas durante M₃, la acumulación de biomasa en granos pudo ser atribuida exclusivamente al uso de reservas (i.e., CC_{LEG} < 0; figura 3.5a).

Figura 3.5. Relación entre (a) rendimiento en grano y crecimiento del cultivo durante el llenado efectivo de granos, y (b) índice de cosecha (IC) y uso aparente de reservas (UAR). Símbolos como en la figura 3.4. La ecuación y la línea llena en la figura (b) representan el modelo ajustado a todo el conjunto de datos.



3.4. Discusión

En el presente capítulo se estudió la determinación del rendimiento en biomasa y grano de tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante, los cuales crecieron en un mismo ambiente templado y fueron expuestos a breves episodios de golpes de calor durante tres períodos diferentes del ciclo del cultivo. Para el análisis se utilizó el marco conceptual ecofisiológico propuesto por Passioura (1996), basado en la captura de recursos, la eficiencia en el uso de los recursos capturados para producir biomasa y la partición de la biomasa producida a granos. Debido a que los recursos edáficos (i.e., agua y nutrientes) no fueron limitantes, el análisis se basó en la RFA. En estos experimentos, todas las combinaciones de tratamientos alcanzaron valores de IAF superiores al IAF crítico (i.e. IAF que determina $fRFA_i \sim 0.95$, Brougham, 1957) durante PC y LEG, con la concomitante maximización en la captura de radiación. La falta de efecto del golpe de calor sobre el IAF_{R1} y el IAF_{R6} pone en evidencia la baja influencia de breves episodios de temperaturas supraóptimas sobre la expansión de tejidos (Cicchino et al., 2010b) y la senescencia foliar, nunca reportado en maíz. Esta respuesta contrasta con aquellas esperadas para deficiencias hídricas (Boyer, 1970; Chenu et al., 2008) o nitrogenadas (Lemcoff y Loomis, 1986; Uhart y Andrade, 1995b), en que la captura de luz suele ser el determinante ecofisiológico de mayor impacto sobre la producción de biomasa. La senescencia foliar en postfloración sólo difirió en respuesta a ambientes lumínicos contrastantes durante el llenado efectivo de granos (i.e., RFA_{LEG}), variaciones exclusivamente

atribuidas a las distintas fechas de siembra y años experimentales. Estos resultados ponen de manifiesto el fuerte control que ejerce la relación fuente-destino en postfloración sobre la duración del área foliar (Borrás et al., 2003a).

A pesar de que la $fRFAi$ fue siempre muy elevada ($fRFAi \geq 0.94$) desde inicios del período crítico en adelante, el golpe de calor tuvo un fuerte efecto sobre la captura de radiación debido al acortamiento del llenado efectivo de granos. Variaciones en la duración del llenado de granos han sido documentadas en maíz bajo condiciones contrastantes de crecimiento (Allison y Daynard, 1979; Cirilo y Andrade, 1996). En esta especie, la duración del llenado efectivo de granos está regulada por la disponibilidad de asimilados por grano durante este período (Gambín et al., 2006), independientemente del factor limitante; i.e., respuesta similar para defoliación (Tollenaar y Daynard, 1978a; Jones y Simmons, 1983), sombreado (Andrade y Ferreiro, 1996), sequía (Ouattar et al., 1987a; Westgate, 1994), o temperaturas supraóptimas (Wilhelm et al., 1999). En este estudio, el acortamiento del llenado efectivo de granos debido al golpe de calor fue particularmente severo en el híbrido Te calentado durante M_3 . La persistencia del aparato fotosintético durante el llenado de granos (i.e., *stay-green*) ha sido considerada como uno de los principales atributos secundarios de tolerancia al golpe de calor (Reynolds et al., 2001). Este atributo podría ser el responsable del mayor grado de tolerancia a las altas temperaturas observado en genotipos tropicales. Curiosamente, los resultados de este trabajo no apoyan plenamente esta afirmación ya que no se detectaron claras tendencias entre genotipos en indicadores fisiológicos de *stay-green* (IAF, $fRFAi$). Adicionalmente, la muerte prematura observada en el híbrido Te calentado durante M_3 no estaría asociada a daños celulares severos que desencadenan un colapso celular repentino (Fan y Xing, 2004), ya que no se registraron casos de muerte súbita de plantas durante el período de calentamiento (i.e., la senescencia total de las plantas ocurrió algunos días después de finalizado el estrés).

La TCC fue severamente reducida por el golpe de calor en todas las combinaciones de tratamiento. La magnitud de este efecto fue muy superior a las registradas en estudios de déficit hídrico (Çakir, 2004; Echarte y Tollenaar, 2006) o nitrogenado (Lemcoff y Loomis, 1986; Uhart y Andrade, 1995b) en condiciones de campo. Incluso, se detectaron valores negativos de TCC debido al calentamiento. Las reducciones en la TCC estuvieron exclusivamente asociadas a caídas en la EUR (figura 3.3), ya que el golpe de calor no tuvo efectos considerables sobre la $fRFAi$. Estos resultados son respaldados por evidencias previas en un híbrido templado de maíz (Cicchino et al., 2010b), donde los autores reportaron un mayor efecto del golpe de calor sobre la EUR que sobre la interceptación de luz. En conjunto, la evidencia disponible sugiere que el golpe de calor podría afectar la EUR no sólo a través de daños en el aparato fotosintético (Berry y Bjorkman, 1980; Crafts-Brandner y Salvucci, 2002), sino también a través de incremento en la respiración de mantenimiento (Penning de Vries et al., 1979). A pesar de las fuertes reducciones registradas en la EUR durante los períodos de calentamiento (entre -15 y -187% a lo largo de todas las combinaciones de tratamiento), el efecto negativo del golpe de calor sobre la producción de biomasa fue menos pronunciado (entre -3 y -33%). Esto sería atribuible a la relativamente corta duración del estrés (ca. entre 12 y 18% del ciclo total del cultivo), y a la rápida recuperación de crecimiento de las plantas luego de finalizado el calentamiento (Karim et al., 1999; Kreslavski et al., 2008). Los resultados del presente capítulo ponen de manifiesto la existencia de diferencias genotípicas en la sensibilidad de la EUR al golpe de calor ($Te > Tr > TeTr$), información nunca antes reportada para maíces creciendo en condiciones de cultivo y difícilmente extrapolable de estudios previos realizados con genotipos de distinto

origen creciendo en condiciones no estresantes (Dwyer y Tollenaar, 1989; Lafitte y Edmeades, 1997). Los valores estimados de EUR en las parcelas control fueron similares entre genotipos y mayores a aquellos normalmente reportados en maíz (Sinclair y Muchow, 1999; Lindquist et al., 2005). Esto último podría deberse a los efectos favorables de la cobertura de polietileno de los invernáculos sobre el crecimiento del cultivo, promovidos por un incremento en el componente difuso de la radiación solar incidente (Cabrera et al., 2009). Este efecto mejora la distribución de luz dentro del canopeo con los beneficios asociados en la actividad fotosintética (Sinclair et al., 1992). Sin embargo, se debe tener recaudo al hacer comparaciones directas entre los valores de EUR obtenidos en este trabajo y los obtenidos en la mayoría de los estudios a campo. En primer lugar, debido a los mencionados efectos del polietileno sobre el ambiente lumínico (proporción de radiación difusa vs. directa). En segundo lugar, debido a que el método empleado en este estudio para el cálculo de la EUR (i.e., cociente entre incrementos de biomasa y RFAi durante breves períodos de tiempo) difiere del método comúnmente utilizado (i.e. pendiente de la regresión entre biomasa y RFAi acumulada durante largos períodos de tiempo; Sinclair y Muchow, 1999), pudiendo introducir importantes diferencias en el resultado final (Demetriades-Shah et al., 1992). Finalmente, se debe tener en cuenta la temperatura de crecimiento del cultivo a comparar, considerando que en el presente estudio las parcelas control se encontraron dentro del rango que supuestamente maximiza la EUR (Kiniry et al., 1989; Andrade et al., 1993).

Las reducciones en el RGC causadas por el golpe de calor estuvieron principalmente asociadas a caídas en el índice de cosecha, y en menor medida a reducciones en la biomasa aérea final. Este tipo de respuesta difiere de la usualmente reportada para déficit hídrico o nitrogenado a lo largo del ciclo (Sinclair et al., 1990; Muchow, 1994; D'Andrea et al., 2006), dado que estas deficiencias provocan limitaciones graduales al crecimiento que le permiten a las plantas ajustar su tamaño a la disponibilidad de recursos, y consecuentemente provocan un mayor impacto sobre la producción de biomasa que sobre el índice de cosecha. Por otra parte, el efecto negativo del golpe de calor sobre el rendimiento en granos fue mayor cuando éste ocurrió alrededor de floración, coincidiendo con el patrón general observado para otros estreses abióticos (Fischer y Palmer, 1984; Andrade et al., 2002). Este resultado permite aceptar la Hipótesis 1 de la presente tesis.

La magnitud de las caídas registradas en el índice de cosecha debido al golpe de calor no dependió de variaciones en la intensidad del estrés entre momentos de calentamiento, ya que las fechas de siembra permitieron homogeneizar las características del estrés (cuadro 3.2). A su vez, las caídas en el índice de cosecha debido a los golpes de calor alrededor de floración tampoco estuvieron asociadas a los documentados efectos negativos de las altas temperaturas sobre el proceso de polinización (Capítulo 1), debido a que se realizaron polinizaciones manuales durante el período de emergencia de estigmas. Por lo tanto, las fuertes caídas del índice de cosecha como consecuencia del golpe de calor pueden ser atribuibles a fallas en la fijación de granos, tal como fuera descrito por Echarte y Andrade (2003) en estudios de densidad de siembra. La respuesta asociada a esta reducción es una caída en la demanda de los destinos reproductivos por asimilados, que sumado a la alta tasa de crecimiento del cultivo durante el llenado de granos (figura 3.3a-f) determina un importante desbalance entre fuente y destino. Este desbalance podría explicar la acumulación aparente de reservas registrada durante el llenado efectivo de granos de las parcelas calentadas alrededor de floración (Uhart y Andrade, 1991; Borrás y Otegui, 2001). La tendencia opuesta fue observada en las parcelas calentadas durante M₃, las cuales no exhibieron restricciones en la fijación de granos,

pero sí en el crecimiento durante el llenado efectivo de granos. En esta condición, la demanda de los destinos reproductivos fue en parte sostenida por las reservas de asimilados, las cuales parecieron ser la única fuente de asimilados en algunas parcelas de los híbridos Te y Tr. La variación antes descrita en la relación fuente-destino durante el llenado de granos tuvo un efecto claro en el índice de cosecha, que pudo ser explicado por una única relación exponencial (figura 3.5b).

Contrariamente a lo esperado (Fischer y Palmer, 1984; Duvick, 2005), el fondo genético templado no confirmó incrementos en el RGC y en el índice de cosecha en condiciones no estresantes de crecimiento. Sin embargo, los materiales analizados mostraron diferencias genotípicas claras en la respuesta al golpe de calor. El híbrido Te fue el material con mayor sensibilidad al estrés en todos los momentos de incidencia estudiados, registrando mayores caídas del RGC que el resto de los genotipos. Estos resultados concuerdan con lo establecido en la *Predicción 2*, permitiendo aceptar la segunda hipótesis de la presente tesis. La diferente tolerancia al estrés no pudo ser relacionada a una capacidad diferencial de los genotipos para almacenar asimilados en el tallo y/o remobilizar las reservas a granos. La capacidad de reserva de asimilados en tallo suele estar fuertemente ligada al tamaño del tallo (Daynard et al., 1969), atributo considerablemente reducido en especies con larga historia de mejoramiento como el maíz (Hay y Gilbert, 2001; Lemaire y Gastal, 2009). Los híbridos utilizados en este trabajo no difieren notablemente en este rasgo (datos no mostrados). Del mismo modo, no se detectó una tendencia clara entre genotipos en el uso aparente de reservas o en el *stay-green*. Por lo tanto, las diferencias genotípicas en la tolerancia al golpe de calor parecieron estar asociadas a la funcionalidad del aparato fotosintético (evidenciado por la variación observada en la EUR), y no a cambios en el IAF o la fRFAi. Adicionalmente, las diferencias de rendimiento en grano entre genotipos sometidos a golpes de calor alrededor de floración pudieron estar asociadas a distinto grado de sensibilidad en la fijación de granos, aspecto que será evaluado detalladamente en los Capítulos 4 y 5 de la presente tesis.

3.5. Conclusiones

El estrés por golpe de calor tuvo un efecto negativo en la producción de biomasa, vinculado a variaciones en la EUR y la cantidad de luz captada por el cultivo. Este último, sin embargo, no estuvo asociado a reducciones en la captura de luz (i.e., efectos negativos sobre la expansión y la senescencia foliar), sino más bien al acortamiento del ciclo del cultivo. Las caídas de RGC debido al golpe de calor estuvieron principalmente asociadas a variaciones en el índice de cosecha, especialmente cuando el calentamiento ocurrió alrededor de floración. Los hallazgos más importantes de este capítulo fueron (i) la detección de diferencias genotípicas entre híbridos de origen contraste en la respuesta al golpe de calor para alguno de los caracteres analizados, y (ii) la evaluación de la contribución relativa de la producción de biomasa y la removilización de reservas durante el llenado efectivo de granos para contribuir al RGC. El primer aspecto distingue al híbrido templado como el genotipo más sensible a los golpes de calor. Esta tendencia no fue sesgada por la forma en que se calculó el efecto del golpe de calor (diferencia absoluta entre T_E y T_C), ya que no existieron diferencias genotípicas en el RGC y sus determinantes fisiológicos cuando se compararon las parcelas control. El segundo aspecto pone de manifiesto la importancia de la contribución de las reservas para el RGC cuando el golpe de calor ocurre durante la primera mitad del llenado efectivo de granos.

Golpe de calor en híbridos de maíz templados y tropicales: Una aproximación novedosa para estudiar las causas de pérdida de granos en condiciones de cultivo^{4.1}

^{4.1}El contenido de este capítulo fue publicado en Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E., 2013. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: A novel approach for assessing sources of kernel loss in field conditions. Field Crops Res. 142, 58-67

4.1. Introducción

En el capítulo anterior se puso en evidencia la existencia de diferencias genotípicas en la respuesta al golpe de calor en aspectos relativos a la producción de biomasa del cultivo y su asignación a granos, siendo el híbrido Tr más tolerante al estrés que los híbridos Te y TeTr. Las principales diferencias estuvieron asociadas a una menor caída del índice de cosecha cuando el golpe de calor incidió alrededor de floración, lo cual brinda algunos elementos para suponer que la determinación del NGP es un proceso clave en la búsqueda de tolerancia al golpe de calor como lo es para otros estreses (Andrade et al., 2002; Echarte y Tollenaar, 2006; D'Andrea et al., 2008). En el primer capítulo se comentó la relación curvilínea que existe entre el NGP y la TCP_{PC} . El análisis de los parámetros que describen dicha relación ha permitido mejorar el entendimiento de las bases fisiológicas que explican la tolerancia a distintos tipos de estreses (Echarte et al., 2000; Echarte y Tollenaar, 2006; Luque et al., 2006; D'Andrea et al., 2008). Basados en los resultados obtenidos en estos estudios (op. cit.) podría suponerse que la superioridad del genotipo Tr en condiciones de golpe de calor sería atribuible a un alta capacidad para sostener el crecimiento de la planta y la partición de asimilados a espiga, un menor umbral de esterilidad, y/o un menor nivel de respuesta del NGP a cambios en la TCP_{PC} para minimizar las pérdidas de grano ante caídas en la TCP_{PC} . Sin embargo, este marco conceptual no contempla la existencia de otra fuente variación del NGP que no está directamente asociada a variaciones en la producción y asignación de asimilados, como las fallas en los eventos reproductivos. Tal como se indicara en la sección 1.2.1.2, el golpe de calor provoca caídas importantes del NGP a través de dichas fallas y, consecuentemente, podrían ser las principales determinantes de las diferencias genotípicas observadas.

Las fallas en los eventos reproductivos suelen ser responsables de un ajuste variable en la respuesta del NGP a la TCP_{PC} ($NGP-TCP_{PC}$) o del NGP a la TCE_{PC} ($NGP-TCE_{PC}$). En condiciones de golpe de calor donde la magnitud de estas fallas es considerable, el uso de análisis convencionales, como la regresión por mínimos cuadrados, nos brinda una débil predicción del NGP dado que el ajuste se produce por el centro de la distribución de puntos (Cade et al., 1999). Por lo tanto, la variación en el NGP que no está asociada a cambios en la TCP_{PC} o la TCE_{PC} (i.e., aquella atribuida a efectos directos del estrés sobre eventos reproductivos) no es tenida en cuenta en dicho análisis, pasando a formar parte del error de estimación del modelo. Una mejor interpretación de la relación $NGP-TCP_{PC}$ podría lograrse ajustando el modelo al límite superior de la respuesta (e.g. el cuantil 99) en lugar de hacerlo al centro de la distribución. En este caso, podría decirse que los valores próximos al límite superior representan la respuesta potencial del NGP a cambios en la TCP_{PC} , y que la distancia existente entre ese límite y los valores de NGP observados se encuentra asociada a otros factores limitantes no incluidos en el modelo propuesto. En este capítulo, se propone una aproximación superadora a los modelos curvilíneos clásicos ajustados de forma independiente a las relaciones $NGP-TCP_{PC}$ y $NGP-TCE_{PC}$. Dicha aproximación se basa en el análisis combinado de estas relaciones con un ajuste al límite superior de la distribución de datos. Su aplicación permite conocer la respuesta potencial del NGP a cambios en la TCP_{PC} y discernir entre distintas fuentes de reducción del NGP. Los objetivos de este capítulo fueron (i) evaluar las fuentes de reducción del NGP que determinan la brecha entre el número de granos potencialmente alcanzable por una planta (NGPP) y el finalmente alcanzado por la misma (i.e., NGP), e (ii) identificar las principales causas que explican las diferencias genotípicas en la respuesta al golpe de calor.

4.2. Materiales y métodos

El diseño experimental y los tratamientos impuestos fueron detallados en el Capítulo 2. En el presente capítulo se incluyen datos provenientes de todas las combinaciones de tratamientos y años experimentales, exceptuando al tercer momento de incidencia de los regímenes térmicos (M_3). Se incluyen a continuación detalles sobre mediciones y cálculos particulares realizados para la caracterización de los atributos de interés en este capítulo.

4.2.1. Mediciones y cálculos

4.2.1.1. Tasa de crecimiento de planta y espiga, índice de partición de biomasa a espiga y número de granos

En el estadio de V_{11} se marcaron en cada pacerla un total de nueve plantas aledañas de similar tamaño (estimación visual). La biomasa aérea de todas las plantas marcadas se estimó en V_{15} , R_1 y R_2 por medio de modelos alométricos basados en la relación entre la biomasa de planta y variables morfométricas (ver sección 3.2.1). Se estimó la TCP_{PC} (en $g\ d^{-1}$) y TCE_{PC} (en $g\ d^{-1}$) a través de la pendiente de la regresión lineal ajustada a la evolución de la biomasa de la planta o de la espiga apical durante el PC, respectivamente. La biomasa de la espiga en V_{15} fue considerada cero (Otegui y Bonhomme, 1998). La partición de biomasa a espiga (IP: índice de partición) para cada planta marcada se estimó mediante el cociente entre la TCE_{PC} y la TCP_{PC} .

En madurez fisiológica, las espigas de cada planta marcada fueron cosechadas individualmente a mano para la posterior cuantificación del número de granos. No se encontraron espigas subapicales, por lo que el NGP fue igual al número de granos establecidos en la espiga apical (NGE).

4.2.1.2. Fuentes de variación del número de granos

La respuesta media del NGP a variaciones en la TCP_{PC} o en la TCE_{PC} fue ajustada mediante regresión por mínimos cuadrados. Esta relación fue establecida para cada genotipo a lo largo de todas las combinaciones de tratamiento mediante el modelo curvilíneo descrito por la ecuación (4.1)

$$NGP = a_{media} \left\{ 1 - \exp \left[\frac{-(x - c_{media})}{b_{media}} \right] \right\} \quad (4.1)$$

donde x representa la TCP_{PC} o la TCE_{PC} , a_{media} es el NGP máximo capaz de ser establecido a altas TCP_{PC} , b_{media} es una medida de la respuesta del NGP a cambios en TCP_{PC} o en TCE_{PC} , y c_{media} es el umbral mínimo de TCP_{PC} o TCE_{PC} por debajo del cual un individuo resulta estéril.

Adicionalmente, se analizó la respuesta del NGP potencial (NGPP) a variaciones en la TCP_{PC} y la TCE_{PC} a través el ajuste de la ecuación (4.2) mediante el análisis de regresión por el cuantil 99.

$$NGPP = a_{potencial} \left\{ 1 - \exp \left[\frac{-(x - c_{potencial})}{b_{potencial}} \right] \right\} \quad (4.2)$$

donde x representa la TCP_{PC} o la TCE_{PC} , $a_{potencial}$ es el NGP máximo absoluto capaz de ser establecido a altas TCP_{PC} , $b_{potencial}$ es una medida de la respuesta potencial del NGP a cambios en TCP_{PC} o en TCE_{PC} , y $c_{potencial}$ es el umbral mínimo absoluto de TCP_{PC} o TCE_{PC} por debajo del cual un individuo resulta estéril. Esta metodología aplicada al estudio de la respuesta potencial de procesos mejora a la aproximación de línea de frontera, usualmente utilizada para el análisis de eficiencia en el uso de recursos (French y Schultz, 1984; Otegui y Bonhomme, 1998). En la figura 4.1 se muestra una representación teórica del ajuste de los modelos (4.1) y (4.2).

Para cada planta marcada se estimaron dos valores de NGPP, uno calculado a partir de la TCP_{PC} ($NGPP_{TCP}$) y otro a partir de la TCE_{PC} ($NGPP_{TCE}$). Estos valores fueron promediados para cada repetición, y a partir de estas medias se computaron tres fuentes de variación en el NGP (ΔNGP) entre $NGPP_{TCP}$ y NGP (figura 4.1).

La primera fuente de variación (ΔNGP_1) representa los cambios en el NGPP debido a variaciones en la TCP_{PC} . Esta fuente de variación fue considerada nula en las parcelas control y computada como se detalla en la ecuación (4.3) en las parcelas de estrés.

$$\Delta NGP_1 T_E = NGPP_{TCP T_E} - NGPP_{TCP T_C} \quad (4.3)$$

Debido a que en el tratamiento de estrés siempre se produjeron reducciones del crecimiento de la planta (Capítulo 3), los valores de $\Delta NGP_1 T_E$ fueron siempre negativos.

La segunda fuente de variación (ΔNGP_2) estuvo asociada a cambios en la partición de biomasa a espiga y fue computada para cada combinación de tratamiento según se indica en la ecuación (4.4)

$$\Delta NGP_2 = NGPP_{TCE} - NGPP_{TCP} \quad (4.4)$$

La tercera fuente de variación (ΔNGP_3) representó la variación en el NGPP no asociada a la asignación de asimilados hacia la espiga. Esta fue computada para cada combinación de tratamiento según se indica en la ecuación (4.5)

$$\Delta NGP_3 = NGP - NGPP_{TCE} \quad (4.5)$$

El efecto del golpe de calor sobre cada fuente de ΔNGP se estimó como la diferencia entre los valores de ΔNGP_n obtenidos en las parcelas de estrés y control.

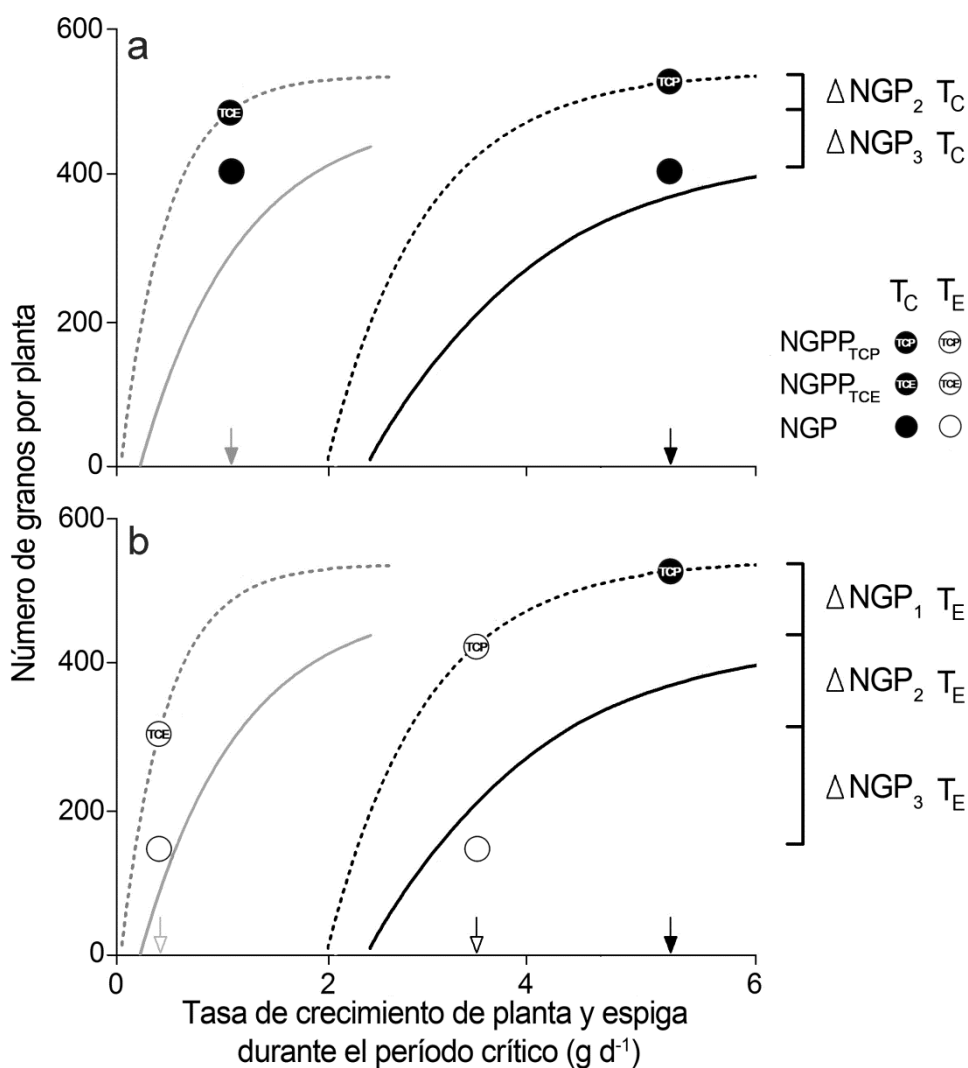
Se evaluó la relación existente entre ΔNGP_2 y PI a través del análisis de regresión por mínimos cuadrados, ajustando los datos al modelo curvilíneo (4.1).

4.2.2. Análisis estadístico

El efecto de los tratamientos y sus interacciones fue evaluado a través de los experimentos mediante análisis de varianza. Se realizó un test-t para analizar las diferencias entre medias y análisis de regresión para evaluar las relaciones entre variables. El ajuste de los modelos se realizó mediante R (R-Development-Core-Team, 2011). Se utilizaron los paquetes *nls* y *quantreg* para los análisis de regresión por mínimos cuadrados y por cuantiles, respectivamente. El coeficiente de determinación del análisis de regresión por cuantiles (r^1) se computó en términos de la sumatoria de los residuos absolutos ponderados (Koenker y Machado, 1999). Este valor es una medida de la bondad de ajuste local de un cuantil específico (en este caso el 99) por lo que no merece la misma interpretación que el coeficiente de

determinación del método de mínimos cuadrado (r^2), el cual constituye una medida de la bondad de ajuste global.

Figura 4.1. Representación esquemática de la respuesta media (líneas llenas) y potencial (líneas punteadas) del NGP a variaciones en la TCP_{PC} (líneas negras) y en la TCE_{PC} (líneas grises) en parcelas (a) control y (b) calentadas. Los símbolos representan valores de NGP observados y calculados para cualquier planta del *stand*. Para cada planta se registró el NGP alcanzado a madurez fisiológica (NGP) y se calcularon dos valores de NGP potencial (NGPP) según la TCP_{PC} ($NGPP_{TCP}$) y la TCE_{PC} ($NGPP_{TCE}$) registradas para cada planta. Las flechas indican la TCP_{PC} (flecha negra) y la TCE_{PC} (flecha gris) observadas en plantas control (flechas llenas) y calentadas (flechas vacías). Los parámetros obtenidos a través del ajuste de un modelo curvilíneo mediante el análisis de regresión por cuantiles fueron utilizados para calcular los mencionados valores teóricos (i.e., $NGPP_{TCP}$ y $NGPP_{TCE}$). La brecha entre $NGPP_{TCP}$ y NGP fue atribuible a tres fuentes de ΔNGP , las cuales fueron relacionadas a cambios en la TCP_{PC} ($\Delta NGP_1 = 0$ para parcelas control y $\Delta NGP_1 = NGPP_{TCP} T_E - NGPP_{TCP} T_C$ para parcelas de estrés), a cambios en la partición de biomasa a espiga ($\Delta NGP_2 = NGPP_{TCE} - NGPP_{TCP}$) y a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga ($\Delta NGP_3 = NGP - NGPP_{TCE}$).



4.3. Resultados

4.3.1. Tasa de crecimiento de planta y espiga durante el período crítico y partición de biomasa a espiga

La TCP_{PC} difirió ($P < 0.001$) entre híbridos, independientemente de los regímenes térmicos (cuadro 4.1). En las parcelas control, la TCP_{PC} fue mayor para el híbrido Te (4.7 g d^{-1} ; promediando entre experimentos y períodos de estudio) que para los híbridos TeTr (4.1 g d^{-1}) y Tr (3.8 g d^{-1}). El golpe de calor redujo la TCP_{PC} entre un -25% y -52% (caída respecto al control; promediando entre todas las combinaciones de tratamiento), siendo la magnitud de este efecto similar entre momentos de calentamiento y genotipos.

Cuadro 4.1. Tasa de crecimiento de planta (TCP_{PC}) y espiga (TCE_{PC}) durante el período crítico para la fijación de granos e índice de partición de biomasa a espiga (IP).

| Exp | M | H | RT | TCP _{PC} | TCE _{PC} | IP |
|---|----------------|------|----------------|--------------------|-------------------|-------|
| | | | | g d ⁻¹ | | |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 5.71 | 1.02 | 0.17 |
| | | | T _E | 3.23 | 0.43 | 0.14 |
| | | TeTr | T _C | 4.19 | 0.78 | 0.18 |
| | | | T _E | 2.49 | 0.40 | 0.16 |
| | | Tr | T _C | 4.50 | 0.85 | 0.18 |
| | | | T _E | 2.20 | 0.81 | 0.35 |
| | M ₂ | Te | T _C | 5.38 | 0.99 | 0.18 |
| | | | T _E | 3.07 | 0.34 | 0.11 |
| | | TeTr | T _C | 5.22 | 0.90 | 0.17 |
| | | | T _E | 3.52 | 0.45 | 0.13 |
| | | Tr | T _C | 4.07 | 0.96 | 0.24 |
| | | | T _E | 2.90 | 0.54 | 0.19 |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 4.21 | 0.92 | 0.22 |
| | | | T _E | 2.38 | 0.50 | 0.22 |
| | | TeTr | T _C | 3.55 | 1.03 | 0.29 |
| | | | T _E | 2.02 | 0.51 | 0.25 |
| | | Tr | T _C | 3.73 | 0.81 | 0.22 |
| | | | T _E | 1.81 | 0.48 | 0.27 |
| | M ₂ | Te | T _C | 3.63 | 0.69 | 0.19 |
| | | | T _E | 2.37 | 0.37 | 0.15 |
| | | TeTr | T _C | 3.58 | 0.55 | 0.15 |
| | | | T _E | 2.69 | 0.23 | 0.09 |
| | | Tr | T _C | 2.85 | 0.71 | 0.27 |
| | | | T _E | 1.93 | 0.31 | 0.19 |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | |
| Experimento (Exp) | | | | 0.001 ^a | 0.026 | ns |
| Momento (M) | | | | ns | 0.007 | 0.006 |
| Híbrido (H) | | | | 0.002 | ns | 0.001 |
| Régimen térmico (RT) | | | | <0.001 | <0.001 | ns |
| Exp × M | | | | 0.017 | 0.012 | ns |
| Exp × H | | | | ns | 0.046 | ns |
| Exp × RT | | | | 0.005 | ns | ns |
| M × H | | | | 0.014 | ns | ns |
| M × RT | | | | 0.003 | ns | 0.000 |
| H × RT | | | | ns | 0.022 | 0.021 |
| Exp × M × H | | | | ns | 0.015 | 0.034 |
| Exp × M × RT | | | | ns | 0.033 | ns |
| Exp × H × RT | | | | ns | 0.022 | ns |
| M × H × RT | | | | ns | ns | 0.004 |

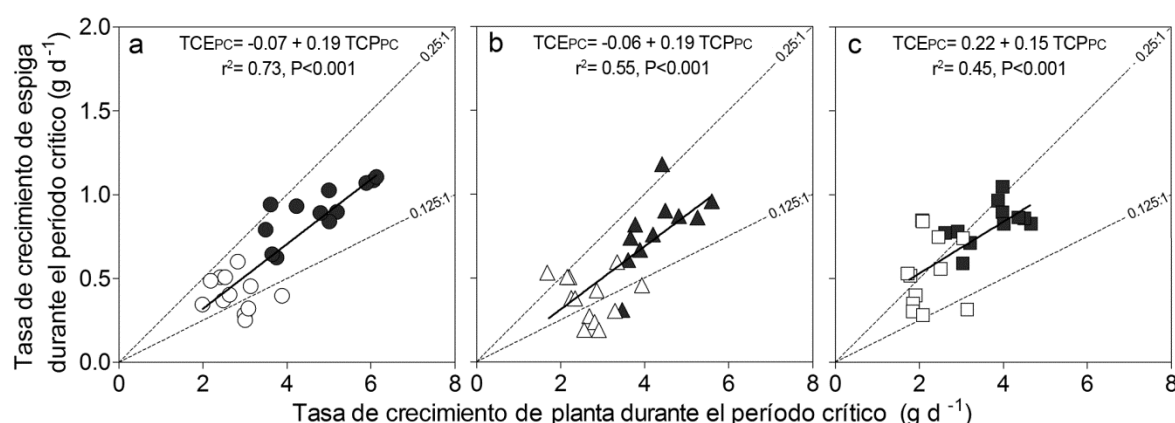
^a Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

T_C: control; T_E: estrés por golpe de calor; Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr.

La TCE_{PC} en las parcelas control siguió la misma tendencia que la TCP_{PC}. Se observaron mayores valores de TCE_{PC} para el híbrido Te (0.9 g d^{-1} ; promediando entre experimentos y períodos de estudio) que para los híbridos TeTr (0.81 g d^{-1}) y Tr (0.83 g d^{-1}), pero estas diferencias no fueron significativas. El golpe de calor redujo la TCE_{PC} ($P < 0.001$; cuadro 4.1) de manera similar entre momentos de calentamiento, pero no entre genotipos. La caída en la TCE_{PC} debida al estrés fue menor para el híbrido Tr (-36% respecto al control; promediando entre experimentos y momentos de calentamiento) que para el resto de los híbridos (-54% para Te y -52% para TeTr).

La variación observada en la TCE_{PC} dentro de cada genotipo fue explicada satisfactoriamente por variaciones en la TCP_{PC} ($r^2 \geq 0.45$; $P < 0.001$; figura 4.2). El cociente entre dichas variables (i.e., IP; cuadro 4.1) fue similar entre momentos de calentamiento e híbridos en las parcela control (0.19 para Te, 0.21 para TeTr y 0.23 para Tr; promedio entre experimentos y momentos), pero no en las calentadas. La interacción $M \times H \times RT$ ($P = 0.004$) detectada para esta variable indicó que (i) el índice de partición fue más afectado por calentamientos durante M₂ (-30% respecto a T_C; promediando entre experimentos e híbridos) que durante M₁ (12%), y (ii) el calentamiento durante M₁ tuvo un efecto positivo sobre el índice de partición del híbrido Tr (57% respecto al control; promediando entre experimento) y negativo sobre el índice de partición de los híbridos Te (-8%) y TeTr (-13%).

Figura 4.2. Relación entre la tasa de crecimiento de espiga (TCE_{PC}) y la tasa de crecimiento de planta (TCP_{PC}) durante el período crítico para la fijación de granos en los híbridos (a) templado, (b) templado \times tropical, y (c) tropical sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) alrededor de floración. Cada símbolo representa la media de nueve plantas dentro de cada repetición y año experimental. Las líneas punteadas representan la relación 0.125:1 y 0.25:1 entre dichas variables.



4.3.2. Respuesta promedio del número de granos a cambios en tasa de crecimiento de planta y espiga durante el período crítico

El NGP fue satisfactoriamente explicado por variaciones en la TCP_{PC} y en la TCE_{PC} (figura 4.3), siendo esta última variable un mejor predictor del NGP ($r^2 > 0.51$ para la relación NGP- TCE_{PC} ; cuadro 4.2) que la primera de ellas ($r^2 > 0.33$ para la relación NGP- TCP_{PC}). El modelo curvilíneo (4.1) ajustado mediante el análisis de regresión por mínimos cuadrados representó la respuesta promedio del NGP a cambios en la TCP_{PC} y en la TCE_{PC} . Los parámetros que describen dicha respuesta difirieron entre genotipos ($P < 0.05$), por lo que los datos fueron agrupados a través de las combinaciones $Exp \times M \times RT$ (figura 4.3).

El NGP máximo capaz de ser establecido a altas TCP_{PC} (i.e., parámetro a_{media} ; cuadro 4.2) tendió a ser menor para el híbrido TeTr (458 NGP) que para los híbridos Te (488 NGP) y Tr (508 NGP), pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Una tendencia similar se estableció para este parámetro cuando fue calculado para la relación NGP- TCE_{PC} , pero en este caso las diferencias observadas ($Te = Tr > TeTr$) fueron significativas ($P < 0.05$). La respuesta del NGP a cambios en la TCP_{PC} o en la TCE_{PC} (i.e., parámetro b_{media}) no difirió entre genotipos. Por su parte, el umbral mínimo de TCP_{PC} por debajo del cual un individuo resulta estéril (i.e., parámetro c_{media}) fue menor para el híbrido Tr (0.41 g d^{-1}) que para los Te (1.87 g d^{-1}) y TeTr (1.75 g d^{-1}). El umbral de esterilidad calculado mediante la TCE_{PC} presentó el mismo patrón de respuesta (cuadro 4.2).

4.3.3. Respuesta potencial del número de granos a cambios en las tasas de crecimiento de planta y espiga durante el período crítico

El NGP máximo absoluto capaz de ser establecido a altas TCP_{PC} (i.e., parámetro $a_{potencial}$) fue menor para el híbrido TeTr (463 NGPP) que para los híbridos Te (595 NGPP) y Tr (639 NGPP). Esta misma diferencia entre genotipos fue observada para este parámetro cuando se analizó la relación NGPP- TCE_{PC} (490, 611 y 663 NGPP para los híbridos TeTr, Te y Tr, respectivamente). La respuesta potencial del NGP a cambios en TCP_{PC} o TCE_{PC} (i.e., parámetro $b_{potencial}$) fue similar entre genotipos. Contrariamente, el parámetro $c_{potencial}$ (i.e., umbral mínimo absoluto para la fijación de granos) difirió ($P < 0.05$) entre híbridos cuando ambas relaciones (NGPP- TCP_{PC} y NGPP- TCE_{PC}) fueron ajustadas (cuadro 4.2).

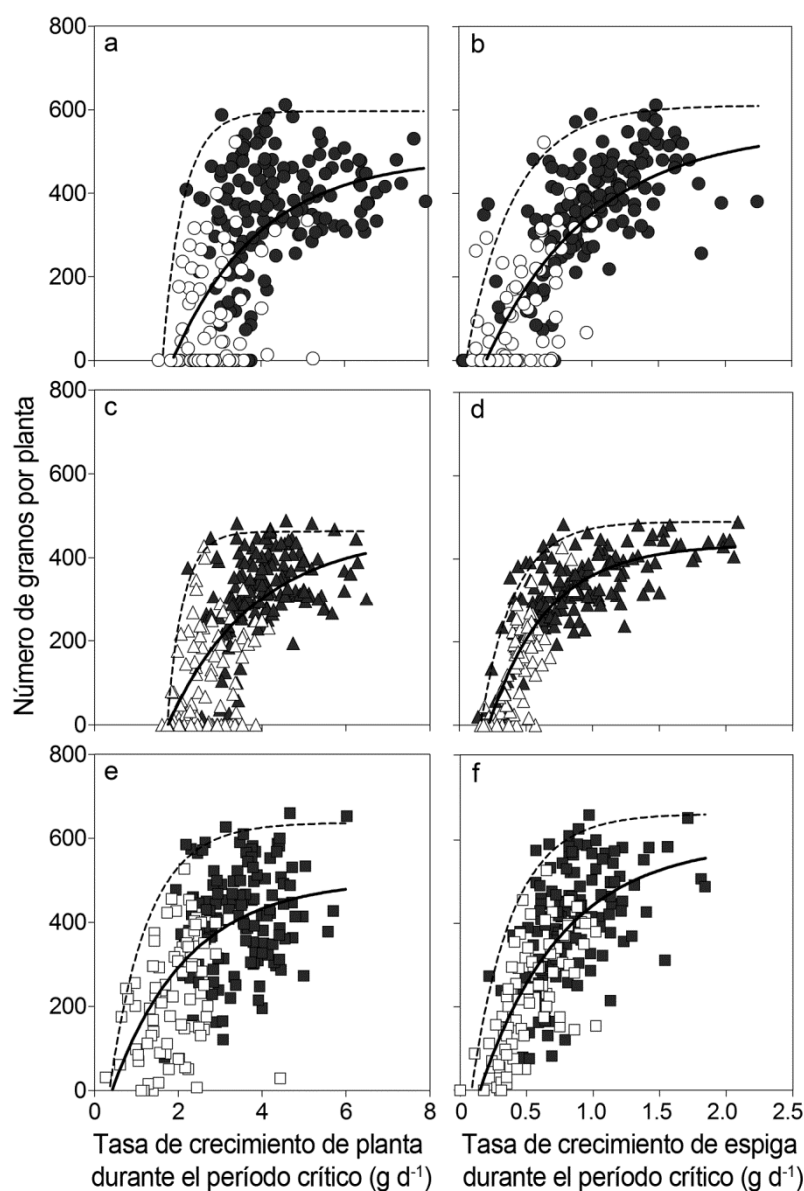
4.3.4. Número de granos potencial y fuentes de variación del número de granos

El NGPP esperado según los valores de TCP_{PC} observado en las parcelas control fue similar entre experimentos y momentos de calentamiento, pero no entre genotipos ($P < 0.001$; cuadro 4.3). El $NGPP_{TCP}$ fue menor para el híbrido TeTr (453 $NGPP_{TCP}$; promedio de parcelas control a lo largo de experimentos y momentos de calentamiento) que para los híbridos Te (588 $NGPP_{TCP}$) y Tr (610 $NGPP_{TCP}$). Resultados similares fueron obtenidos para el NGPP esperado según los valores de TCE_{PC} (i.e., $NGPP_{TCE}$; cuadro 4.3). Los valores de $NGPP_{TCP}$ y $NGPP_{TCE}$ fueron muy próximos al NGP máximo absoluto capaz de ser establecido a altas TCP_{PC} (i.e., parámetro $a_{potencial}$ descrito en la sección 4.3.3).

El golpe de calor redujo el $NGPP_{TCP}$ ($P < 0.001$; cuadro 4.3), siendo este efecto más severo cuando el calentamiento ocurrió durante M_1 (-23% respecto al control;

promediando entre experimentos e híbridos) que durante M_2 (-10%). Los genotipos presentaron similar respuesta al golpe de calor para dicha variable. Contrariamente, el $NGPP_{TCE}$ fue más afectado por calentamientos durante M_2 (-22% para M_1 y -38% para M_2), existiendo una respuesta diferencial al golpe de calor entre genotipos. El híbrido TeTr presentó las mayores caídas del $NGPP_{TCE}$ como consecuencia del golpe de calor, seguido por los genotipos Te (-29%) y Tr (-22%).

Figura 4.3. Respuesta del número de granos por planta a la tasa de crecimiento de planta (a, c y e) y espiga (b, d y f) durante el período crítico para la fijación de granos en los híbridos templado (a y b), templado \times tropical (c y d), y tropical (e y f) sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) alrededor de floración. Los símbolos representan valores obtenidos de plantas individuales y las líneas indican los modelos ajustados al límite superior [líneas punteadas; ecuación (4.2)] o al centro [líneas llenas; ecuación (4.1)] de la distribución de datos. Los parámetros que describen cada relación se detallan en el cuadro 4.2.



Cuadro 4.2. Parámetros de los modelos curvilineales ajustados a la respuesta del número de granos por planta potencialmente alcanzable (NGPP) y finalmente alcanzado a madurez fisiológica (NGP) a cambios en la tasa de crecimiento de planta (TCP_{PC}) y espiga (TCE_{PC}) durante el período crítico para la fijación de granos.

| Relación | Híbrido | Regresión por mínimos cuadrados | | | |
|-----------------------------|---------|---------------------------------|-----------------|-----------------|-------|
| | | a_{media} | b_{media} | c_{media} | r^2 |
| NGP- TCP_{PC} | Te | 488 a | 2.1 a | 1.87 a | 0.47 |
| | TeTr | 458 a | 2.1 a | 1.75 a | 0.46 |
| | Tr | 502 a | 1.8 a | 0.41 b | 0.34 |
| NGP- TCE_{PC} | Te | 557 a | 0.8 a | 0.19 a | 0.65 |
| | TeTr | 437 b | 0.5 a | 0.20 a | 0.76 |
| | Tr | 596 a | 0.6 a | 0.14 b | 0.51 |
| Regresión por el cuantil 99 | | | | | |
| | | $a_{potencial}$ | $b_{potencial}$ | $c_{potencial}$ | r^1 |
| | | | | | |
| NGPP- TCP_{PC} | Te | 595 a | 0.5 a | 1.77 a | 0.15 |
| | TeTr | 463 b | 0.4 a | 1.73 a | 0.19 |
| | Tr | 639 a | 1.0 a | 0.43 b | 0.22 |
| NGPP- TCE_{PC} | Te | 611 a | 0.4 a | 0.06 b | 0.36 |
| | TeTr | 490 b | 0.2 a | 0.16 a | 0.42 |
| | Tr | 663 a | 0.3 a | 0.09 ab | 0.26 |

Diferentes letras dentro de cada columna y variables ajustadas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre híbridos (Te: templado; TeTr: templado \times tropical; Tr: tropical). Todos los modelos ajustados mediante regresión por mínimos cuadrados fueron significativos ($P < 0.001$).

El NGP registrado a madurez fisiológica en las parcelas control fue similar entre períodos de calentamiento durante el Exp₁ (335 NGP para M₁ y 350 NGP para M₂; promediando entre híbridos), pero no durante el Exp₂ (441 NGP para M₁ y 243 NGP para M₂). También se registró similar NGP entre genotipos (313 NGP para Te, 326 NGP para TeTr y 368 NGP para Tr NGP; promediando entre experimentos y momentos), sin embargo, la brecha entre NGPP- TCP_{PC} y NGP fue menor para el híbrido TeTr (-140 NGP) que para los híbridos Te (-264 NGP) y Tr (-242 NGP). En esta condición de crecimiento, la mayor proporción de la pérdida total del NGP fue atribuida a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga (i.e., ΔNGP_3 ; 84% de las pérdidas totales; promedio de las parcelas control a lo largo de todas las combinaciones de tratamientos), y la proporción restante (16%) a cambios en la partición de biomasa a espiga (i.e., ΔNGP_2).

Golpes de calor alrededor de floración tuvieron un efecto severo sobre el NGP, especialmente cuando ocurrieron luego de *silking* (M₂; cuadro 4.3). A pesar de que el NGPP- TCP_{PC} fue menor en las parcelas calentadas que en las parcelas control, la brecha entre NGPP- TCP_{PC} y NGP fue mayor en las primeras (-334 NGP para T_E, promedio a lo largo de todas las combinaciones de tratamientos) que en las segundas (-215 NGP para T_C). La contribución de cada fuente de variación del número de granos a la caída en el NGPP- TCP_{PC} fue de 30% para ΔNGP_1 , 16% para ΔNGP_2 , y 54% para ΔNGP_3 .

El análisis de la varianza indicó que las pérdidas en el NGP que pueden ser atribuidas exclusivamente a los efectos del golpe de calor (i.e., EGC₁, EGC₂ y EGC₃) fueron más variables entre momento de calentamiento ($P \leq 0.05$) que entre genotipos ($P > 0.10$). Sin embargo, se detectaron diferencias genotípicas ($P = 0.09$) cuando dichas pérdidas se analizaron en forma conjunta (i.e., EGC₁ + EGC₂ + EGC₃), siendo

Cuadro 4.3. Número de granos por planta potencialmente alcanzable (NGPP_n) y finalmente alcanzado (NGP), y fuentes de variación del NGP (Δ NGP_n).

| Exp | M | H | RT | NGPP _{TCP} | NGPP _{TCE} | NGP | EGC | Fuente de variación del NGP | | | | | |
|---|----------------|------|----------------|---------------------|---------------------|--------|-------|-----------------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
| | | | | | | | | ΔNGP ₁ | EGC ₁ | ΔNGP ₂ | EGC ₂ | ΔNGP ₃ | EGC ₃ |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 591 | 525 | 351 | | 0 | | -66 | | -174 | |
| | | | T _E | 542 | 380 | 140 | -210 | -49 | -49 | -162 | -95 | -240 | -66 |
| | | TeTr | T _C | 460 | 431 | 320 | | 0 | | -28 | | -112 | |
| | | | T _E | 387 | 292 | 125 | -195 | -72 | -72 | -95 | -67 | -167 | -55 |
| | | Tr | T _C | 627 | 585 | 334 | | 0 | | -42 | | -251 | |
| | | | T _E | 533 | 558 | 339 | 5 | -95 | -95 | 25 | 67 | -219 | 32 |
| | M ₂ | Te | T _C | 593 | 512 | 337 | | 0 | | -82 | | -175 | |
| | | | T _E | 554 | 316 | 23 | -314 | -40 | -40 | -238 | -156 | -293 | -119 |
| | | TeTr | T _C | 463 | 457 | 322 | | 0 | | -6 | | -135 | |
| | | | T _E | 457 | 311 | 130 | -192 | -5 | -5 | -146 | -140 | -182 | -46 |
| | | Tr | T _C | 625 | 615 | 392 | | 0 | | -10 | | -223 | |
| | | | T _E | 589 | 472 | 183 | -210 | -36 | -36 | -117 | -107 | -289 | -67 |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 586 | 525 | 392 | | 0 | | -61 | | -133 | |
| | | | T _E | 417 | 425 | 108 | -284 | -169 | -169 | 8 | 69 | -316 | -184 |
| | | TeTr | T _C | 431 | 452 | 375 | | 0 | | 21 | | -77 | |
| | | | T _E | 229 | 337 | 144 | -231 | -202 | -202 | 108 | 87 | -193 | -116 |
| | | Tr | T _C | 615 | 588 | 464 | | 0 | | -26 | | -124 | |
| | | | T _E | 477 | 469 | 200 | -264 | -138 | -138 | -8 | 18 | -268 | -144 |
| | M ₂ | Te | T _C | 580 | 495 | 213 | | 0 | | -85 | | -282 | |
| | | | T _E | 477 | 346 | 39 | -174 | -102 | -102 | -132 | -47 | -306 | -24 |
| | | TeTr | T _C | 458 | 337 | 234 | | 0 | | -121 | | -103 | |
| | | | T _E | 406 | 121 | 13 | -221 | -52 | -52 | -284 | -164 | -109 | -5 |
| | | Tr | T _C | 573 | 570 | 283 | | 0 | | -3 | | -287 | |
| | | | T _E | 481 | 349 | 93 | -190 | -92 | -92 | -132 | -129 | -256 | 31 |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | | | | | | | | |
| Experimento (Exp) | | | | 0.001 ^a | ns | ns | ns | 0.001 | <0.001 | ns | ns | ns | ns |
| Momento (M) | | | | 0.011 | 0.012 | 0.004 | ns | <0.001 | <0.001 | 0.010 | 0.001 | ns | 0.050 |
| Híbrido (H) | | | | <0.001 | <0.001 | 0.002 | ns | ns | ns | 0.028 | ns | <0.0001 | ns |
| Régimen térmico (RT) | | | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | - | <0.001 | - | <0.001 | - | <0.0001 | - |
| Exp × M | | | | ns | 0.034 | 0.026 | 0.017 | 0.024 | 0.024 | ns | ns | ns | 0.006 |
| Exp × H | | | | ns | 0.032 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 0.018 | ns |
| Exp × RT | | | | <0.001 | ns | ns | - | <0.001 | - | ns | - | ns | - |
| M × RT | | | | <0.001 | 0.012 | ns | - | <0.001 | - | <0.001 | - | 0.027 | - |
| Exp × M × H | | | | ns | 0.025 | ns | ns | ns | ns | 0.018 | ns | ns | ns |
| Exp × M × RT | | | | ns | ns | 0.012 | - | ns | - | ns | - | <0.001 | - |

^a Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

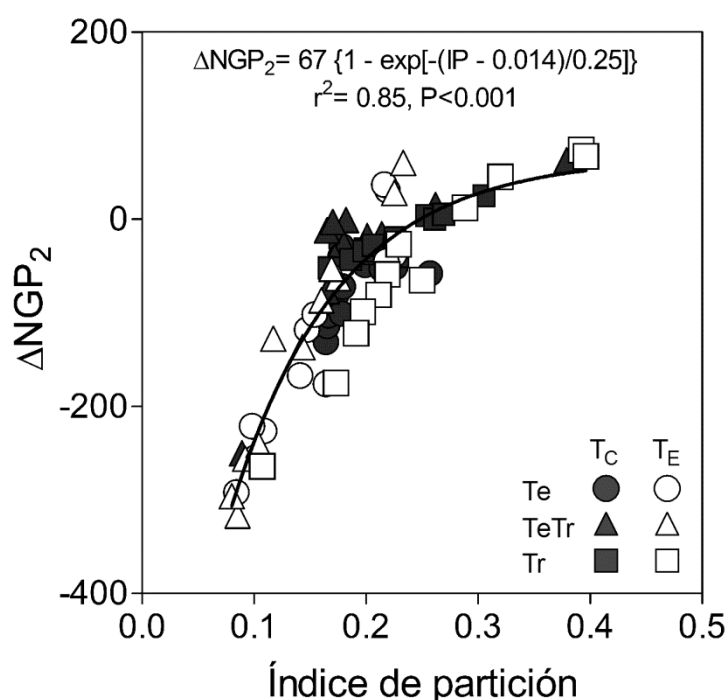
Δ NGP₁: variación en el NGP debido a cambios en TCP_{PC}; Δ NGP₂: variación en el NGP debido a cambios en la partición de biomasa a espiga; Δ NGP₃: variación en el NGP debido a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga; EGC: efecto del golpe de calor; EGC_n: EGC sobre las n fuentes de variación del NGP; NGPP_{TCP}: NGPP calculado a partir de TCP_{PC}; NGPP_{TCE}: NGPP calculado a partir de TCE_{PC}; T_C: control; T_E: estrés por golpe de calor; Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te × Tr.

mayor para el híbrido Te (-245 NGP; promediando entre experimentos y momentos de calentamiento) que para los híbridos TeTr (-210 NGP) y Tr (-165 NGP). Dichas pérdidas del NGP representaron caídas respecto al control de 77% para Te, 69% para TeTr y 44% para Tr (promediando entre experimentos y momentos de calentamiento). Las diferencias observadas para este rasgo entre los híbridos Te y Tr fueron atribuibles a cambios en la partición de biomasa a espiga (i.e EGC₂ Te –

EGC₂ Tr = -20 NGP) y a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga (i.e. EGC₃ Te – EGC₃ Tr = -60 NGP).

Generalmente, el efecto del golpe de calor sobre el NGP debido a caídas en la TCP_{PC} (i.e., EGC₁) fue mayor cuando el estrés ocurrió en etapas previas a floración que en etapas posteriores, mientras que la respuesta opuesta se evidenció para el efecto del golpe de calor sobre el NGP debido a variaciones en la partición de biomasa a espiga (i.e., EGC₂). Incluso, los efectos positivos del golpe de calor durante M₁ sobre la partición de biomasa a espiga (descrito previamente en la sección 4.3.1) determinaron incrementos en ΔNGP_2 respecto al control y, consecuentemente, valores positivos de EGC₂. La relación establecida entre ΔNGP_2 e índice de partición ($r^2 = 0.85$; figura 4.4) permitió identificar un valor de IP umbral (0.25) por encima del cual no se registran pérdidas del NGP atribuibles a caídas en la partición de asimilados hacia la espiga. Por su parte, el efecto del golpe de calor sobre el NGP debido a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga (i.e., EGC₃) fue mayor cuando el calentamiento ocurrió durante M₂ que durante M₁ en el Exp₁. Sin embargo, esta tendencia no pudo evidenciarse durante el Exp₂ debido a los altos valores de ΔNGP_3 registrados en las parcelas M₂ × T_C (cuadro 4.3).

Figura 4.4. Relación entre la variación en el número de granos por planta atribuida a cambios en la partición de biomasa a espiga (ΔNGP_2) y el índice de partición de biomasa a espiga (IP). Los datos corresponden a tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado, Tr: tropical; TeTr: Te × Tr) sometidos a dos regímenes térmicos (T_C: control; T_E: golpe de calor) alrededor de floración durante dos años experimentales.



4.4. Discusión

Se observaron diferencias genotípicas para la mayoría de los rasgos estudiados en las parcelas control. El $NGPP_{TCP}$ calculado para cada híbrido fue levemente inferior al máximo NGP esperado a altas TCP_{PC} (i.e., parámetro $a_{potencial}$), existiendo diferencias genotípicas para dicha variable. Por un lado, estos resultados indican que la mayor parte de los individuos en la parcela control alcanzaron altas TCP_{PC} (Andrade et al., 1999) y presentaron tamaños de plantas muy uniformes entre ellos (Maddonni y Otegui, 2004). Por otra parte, ponen de manifiesto que las diferencias entre híbridos en $NGPP_{TCP}$ estuvieron asociadas a diferencias genotípicas en el parámetro $a_{potencial}$, pero no a diferencias en la respuesta potencial del NGP a cambios en la TCP_{PC} (i.e., parámetro $b_{potencial}$) o en el umbral mínimo absoluto de TCP_{PC} por debajo del cual un individuo resulta estéril (i.e., parámetro $c_{potencial}$). Las diferencias observadas en el parámetro $a_{potencial}$ podrían estar asociadas a diferencias en el tamaño potencial de espiga (i.e., flores por espiga) y/o en la fijación de granos a altas TCP_{PC} . El mejoramiento genético no provocó mejoras significativas en el rendimiento potencial por planta en híbridos templados de Estados Unidos (Duvick y Cassman, 1999; Duvick, 2005), pero si existen evidencias de mejoras genéticas en estos rasgos para híbridos canadienses (Tollenaar et al., 1992) y argentinos (Echarte et al., 2004; Luque et al., 2006). En esta tesis, el híbrido TeTr presentó el menor $NGPP_{TCP}$, pero su NGP fue similar a aquellos registrados por los otros genotipos. Esto fue el resultado de su menor brecha entre $NGPP_{TCP}$ y NGP, ampliamente atribuible a su baja pérdida de granos debido a restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga (i.e., ΔNGP_3). Este resultado es confirmado por el mayor coeficiente de determinación de la relación NGP- TCE_{PC} registrado para el híbrido TeTr en comparación con los restantes híbridos. Las diferencias genotípicas en la magnitud de ΔNGP_3 pueden ser inherentes a cada genotipo debido a que todos los híbridos crecieron bajo condiciones ambientales similares alrededor de floración (sección 3.3.1) y no existieron diferencias genotípicas en rasgos relacionados a eventos florales, como la dinámica de floración o la duración del intervalo antesis-silking (estos rasgos serán evaluados en el Capítulo 5).

Las variaciones en TCP_{PC} o en TCE_{PC} brindaron una explicación aceptable de la variación observada en el NGP, coincidiendo con otros estudios a nivel de planta individual sobre la determinación del número de granos en maíz bajo distintos estreses abióticos (Echarte y Tollenaar, 2006; D'Andrea et al., 2008; Rossini et al., 2011). El establecimiento de dichas relaciones pone de manifiesto que una parte de las pérdidas en el NGP debidas al golpe de calor se encuentra asociada a variaciones en la producción de asimilados y a la partición de asimilados hacia la espiga, según fue demostrado previamente para un híbrido simple de origen templado (Cicchino et al., 2010b).

El golpe de calor alrededor de floración provocó reducciones severas en el NGP, las cuales estuvieron principalmente asociadas a caídas en la TCP_{PC} (i.e., ΔNGP_1). Dicha fuente de pérdida de granos también ha sido considerada como la principal determinante de caídas del NGP provocada por déficits hídricos o nitrogenados (Muchow y Davis, 1988; Uhart y Andrade, 1995b; Andrade et al., 2002). Sin embargo, esta generalización resulta un tanto incierta e incompleta dado que (i) no se sustenta en términos cuantitativos, e (ii) ignora la existencia de pérdidas que no están asociada a la asignación de asimilados hacia la espiga (i.e., ΔKNP_3). Los efectos del golpe de calor sobre ΔNGP_1 (i.e., EGC_1) fueron similares entre híbridos, dado que no existieron diferencias genotípicas en el patrón de respuesta del NGP a variaciones en la TCP_{PC} y en la magnitud del efecto del estrés sobre la TCP_{PC} .

Dejando de lado estos resultados, cabe destacar que la existencia de una relación curvilínea entre el NGP y la TCP_{PC} determina que los efectos negativos del golpe de calor sobre la fijación de granos no sólo dependen de la habilidad de los genotipos para minimizar las reducciones en la TCP_{PC} bajo condiciones de estrés, sino también del rango de TCP_{PC} que exploran los individuos a lo largo de dicha relación. Esto último sugiere que aquellas prácticas de manejo que determinen altas TCP_{PC} previo a la incidencia del golpe de calor, como baja densidad de siembra y adecuada provisión de nutrientes, podrían contribuir a reducir el EGC_1 .

Un aspecto relevante de este trabajo fue la cuantificación de las variaciones en el NGP debido a cambios en la partición de biomasa a espiga (i.e., ΔNGP_2), y su relación robusta ($r^2 = 0.85$) con un índice representativo de la asignación de biomasa a espiga (IP) durante el período crítico para la fijación de granos (figura 4.4). Dicho hallazgo permitió identificar un valor crítico de IP para evitar pérdidas de granos asociadas a la partición de asimilados a espiga, lo cual constituye un avance respecto a la aproximación clásica basada en el estudio independiente de las relaciones NGP- TCP_{PC} y NGP- TCE_{PC} (Echarte y Tollenaar, 2006; Pagano et al., 2007; D'Andrea et al., 2008; Cicchino et al., 2010b; Rossini et al., 2011). Generalmente, se registraron valores negativos de ΔNGP_2 tanto en las parcelas de estrés como en las parcelas control. Esta respuesta podría ser atribuida a los bajos valores de índice de partición registrados en esta tesis, probablemente asociados al empleo de fechas de siembras tardías (Otegui et al., 1995b) con el fin de evitar el sobrecalentamiento en los tratamientos estrés. Debido a esta restricción, estos resultados no serían comparables con los obtenidos a partir de híbridos cultivados en un ambiente similar pero en fechas de siembra tempranas (Pagano y Maddonni, 2007; Rossini et al., 2011), los cuales suelen registrar altos valores de índice de partición (ca. 0.4-0.5). La robustez del ajuste entre la ΔNGP_2 y el IP tampoco pudo ser verificada con antecedentes previos debido a que este enfoque ha sido desarrollado en esta tesis.

A pesar de que el golpe de calor redujo la disponibilidad de asimilados por planta durante el PC, la partición de biomasa a espiga no varió considerablemente, registrándose un bajo EGC_2 . Esta respuesta fue opuesta a aquella esperada para condiciones de sequía (Hall et al., 1981; NeSmith y Ritchie, 1992a), deficiencias de nitrógeno (Uhart y Andrade, 1995b; D'Andrea et al., 2008) o densidades supraóptimas (Edmeades et al., 1993), donde suelen observarse caídas en la partición de asimilados hacia la espiga cuando se producen reducciones severas en la disponibilidad de recursos por planta antes de la antesis. El bajo efecto del golpe de calor sobre el índice de partición y la ΔNGP_2 sería atribuible a pérdidas en la dominancia por asimilados de la panoja y entrenudos superiores respecto a la espiga. Esto podría deberse a una mayor severidad del golpe de calor sobre los órganos que ocupan posiciones superiores dentro canopeo (e.g. panojas de maíz y sorgo, espigas de trigo y cebada, capítulo de girasol), los cuales reciben una mayor carga de radiación solar (Monteith y Unsworth, 1990) y experimentan un mayor incremento de temperatura que aquellos órganos posicionados en la porción media y basal del canopeo, entre los que se encuentra la espiga de maíz (figura 3.2). La restricción al crecimiento de la panoja puede incluso favorecer la partición de biomasa a espiga (Cicchino et al., 2010b), tal como ha sido evidenciado para el híbrido tropical. *A priori*, sería esperable que dicho efecto fuese más importante en genotipos con alto porte y excesivo tamaño de canopeo (Grogan, 1956; Hunter et al., 1969) como muchos maíces tropicales (Fischer y Palmer, 1984). Esta especulación no pudo ser verificada a partir de los resultados de esta tesis dado que no existieron grandes diferencias de tamaño entre los genotipos analizados.

La segunda fuente de variación del número de granos más importante que pudo ser atribuida exclusivamente al golpe de calor estuvo asociada a factores limitantes que no están relacionados en forma directa con la asignación de asimilados hacia la espiga (i.e., EGC₃). Muchos estudios sobre el efecto del golpe de calor alrededor de floración identificaron a la polinización, la fertilización y la fijación de granos como los procesos reproductivos de mayor sensibilidad a las temperaturas supraóptimas en cereales (Barnabás et al., 2008). Las fallas de polinización en maíz han sido asociadas a efectos negativos del golpe de calor sobre la liberación (Schoper et al., 1987) y viabilidad (Herrero y Johnson, 1980; Schoper et al., 1986; Mitchell y Petolino, 1988) de polen, pero no con la receptividad de los estigmas (Dupuis y Dumas, 1990). Los efectos del estrés sobre el desarrollo de flores y la dinámica de emisión de estigmas no han sido evaluados hasta el momento y el tema será tratado en el Capítulo 5. El EGC₃ observado en este capítulo no estaría asociado a la falta de polen viable debido al agregado de polen fresco durante el período de emisión de estigmas. Tampoco se debería a fallas de fertilización dado que los estigmas interrumpieron su crecimiento a las 24 hs de producida la polinización (Bassetti y Westgate, 1993a; Bassetti y Westgate, 1993b). Toda esta información nos permite suponer que el EGC₃ se encuentra mediado por restricciones en el desarrollo de flores femeninas, un menor crecimiento de las mismas y/o un mayor aborto de los granos fecundados. Esta fuente de pérdida de granos fue siempre superior para el híbrido Te que para los genotipos con fondo genético tropical (TeTr y Tr), lo cual permite aceptar la tercer hipótesis de esta tesis.

4.5. Conclusiones

El golpe de calor tuvo un efecto severo sobre la TCP_{PC} y la TCE_{PC}, pero no afectó considerablemente la partición de biomasa a espiga. Los hallazgos más destacables de este capítulo fueron (i) el desarrollo de una aproximación novedosa basada en rasgos ecofisiológicos para estudiar las fuentes de pérdidas del NGP en condiciones de campo, y (ii) la identificación de rasgos asociados a la tolerancia al golpe de calor entre genotipos de fondo genético contrastante. El desarrollo de la nueva aproximación permitió identificar a las caídas en la TCP_{PC} como la principal fuente de reducción del NGP ante la incidencia de golpes de calor alrededor de floración (47% del total de las pérdidas del NGP). Esta pérdida de granos fue seguida por aquellas mediadas por restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga (32%) y por cambios en la partición de biomasa a espiga (21%). La mayor tolerancia al golpe de calor del híbrido tropical estuvo principalmente asociada a restricciones en el desarrollo de flores femeninas, un menor crecimiento de las mismas y/o un mayor aborto de los granos fecundados (i.e., ΔNGP_3). La identificación de este rasgo no hubiese sido posible por medio del análisis de las relaciones NGP-TCP_{PC} y NGP-TCE_{PC} en forma independiente. Esto destaca la importancia de la nueva aproximación como una herramienta para mejorar la eficiencia de selección de genotipos en los programas de mejoramiento genético de maíz.

Efecto del golpe de calor alrededor de floración sobre la fijación de granos de híbridos de maíz de origen templado y tropical^{5.1}

^{5.1}El contenido de este capítulo fue publicado en Rattalino Edreira, J.I., Budakli Carpici, E., Sammarro, D., Otegui, M.E., 2011. Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Res.* 123, 62–73.

5.1. Introducción

En el capítulo anterior se puso en evidencia la existencia de diferencias genotípicas en la respuesta al golpe de calor para la determinación del número de granos, la cual estuvo principalmente asociada a variaciones del número de grano no asociada a la asignación de asimilados hacia la espiga (ΔNGP_3). Ciertos atributos a nivel de órgano (espiga) podrían dar una explicación de las causas de esta respuesta, como un menor grado de desarrollo floral alcanzado al momento de la floración (i.e., el NGP estaría condicionado por el número de flores completamente desarrolladas por espiga), una menor exposición de estigmas por fuera de las chalas o atraso en la aparición de estos respecto a la emisión de polen (i.e., falla de polinización), y/o un mayor aborto de flores polinizadas (i.e., limitaciones metabólicas). De no haberse realizado polinizaciones manuales, los efectos severos del golpe de calor sobre la disponibilidad de polen viable (sección 1.2.1.2.) hubiesen incrementado la ΔNGP_3 (Herrero y Johnson, 1980; Mitchell y Petolino, 1988; Dupuis y Dumas, 1990), a tal punto que podría no haberse registrado fijación de granos. Por otra parte, la sincronización entre la fecha de apertura de anteras y de receptividad de los estigmas (i.e., intervalo antesis-*silking*) no parece imponer limitaciones serias a la polinización en condiciones de golpe de calor (Cicchino et al., 2010b), aunque esta respuesta podría diferir entre genotipos de fondo genético contrastante. El objetivo de este capítulo fue (i) estudiar la dinámica floral y de emisión de estigmas en híbridos de maíz de origen templado y tropical sometidos a golpes de calor alrededor de floración, y (ii) analizar las causas subyacentes a las diferencias genotípicas observadas en ΔNGP_3 .

5.2. Materiales y métodos

El diseño experimental y los tratamientos impuestos fueron detallados en el Capítulo 2. En el presente capítulo se incluyen datos provenientes de todas las combinaciones de tratamientos y años experimentales, exceptuando al tercer momento de incidencia de los regímenes térmicos (M_3). Se incluyen a continuación detalles sobre mediciones y cálculos particulares realizados para la caracterización de los atributos de interés en este capítulo.

5.2.1. Mediciones y cálculos

5.2.1.1. Dinámica de floración y emergencia de estigmas

Al estado ontogénico de V_{11} , se marcaron cuarenta y seis plantas por parcela. En cada una de estas plantas se registró la fecha de antesis (i.e., al menos una antera visible) y *silking* (i.e., al menos un estigma visible). El progreso de dichos eventos fue descrito mediante una función sigmoidea [ecuación (5.1)] ajustada al conjunto de datos de cada evento floral (Lizaso et al., 2003).

$$\text{Prop} = \frac{a}{1 + \exp[-(x-b)/c]} \quad (5.1)$$

donde Prop es la proporción de la población de plantas que alcanza el evento floral, a es la máxima proporción de la población que alcanza el evento de floración, b es el tiempo al 50% del valor representado por el parámetro a (en días), c es parámetro asociado a la pendiente. El intervalo antesis-*silking* de la población de plantas

(IAS_{pp}) fue calculado para cada parcela como la diferencia de tiempo (en días) entre la fecha en que se alcanza el 50% de *silking* y el 50% de antesis. Para comparar entre tratamientos, los datos de ambas floraciones (i.e., antesis y *silking*) fueron estandarizados en cada combinación de $M \times H$, teniendo en cuenta la fecha de inicio de antesis del tratamiento control. El día previo al inicio de antesis en la espiga principal fue denominado día cero (día 0).

Tres plantas marcadas de cada parcela fueron utilizadas para realizar un conteo de estigmas (sólo en el Exp₂). Estas plantas fueron seleccionadas de diferentes percentiles de la población según la fecha de emisión de estigmas con el fin de incluir la variación esperada entre individuos del *stand* (Borrás et al., 2007; Pagano et al., 2007; Borrás et al., 2009). Las plantas con fecha de *silking* temprana, promedio y tardía correspondieron al 25, 50 y 75% de la población. En cada una de estas plantas se cortó la sección de los estigmas expuesta por fuera de las chalas de la espiga principal. Los cortes fueron realizados al primer (día 2), tercer (día 4) y quinto (día 6) día después de observar la emisión del primer estigma (día 1). En cada fecha de muestreo, se contabilizaron los nuevos estigmas expuestos (i.e., aquellos con estigma bífido) a partir de los cuales se estableció la dinámica de emergencia de estigmas (Cárcova et al., 2000). El número total de estigmas expuestos en la espiga principal (NTEE) fue calculado como la suma de todos los estigmas nuevos expuestos al día 6. En cada combinación $M \times H$, el número de estigmas expuestos en cada fecha de muestreo fue referido al máximo NTEE de la parcela, el cual usualmente correspondió a las plantas con *silking* temprano de las parcelas control. Al día siguiente de finalizar los muestreos de estigmas (día 7), las espigas fueron cosechadas para contabilizar el número total de flores desarrolladas en la espiga principal (NTFE). En ambos años experimentales, se cosecharon diez espigas adicionales entre R₃ y R₄ para ampliar el recuento de NTFE. En estas espigas, el número de flores completamente desarrolladas (i.e., aquellas con un estigma visible de al menos 1 mm de longitud; Cárcova et al., 2000) fue contado en dos hileras de espiguillas opuestas a lo largo de la espiga. El valor promedio de dicho conteo fue multiplicado por el número de hileras de espiguillas por espiga para obtener el NTFE. Durante el Exp₁, el NTFE del tratamiento M₂ fue sólo medido en el tratamiento control y se asumió que dicho valor era representativo del NTFE del tratamiento de estrés. Este supuesto se sustenta en el hecho de que la diferenciación de flores finaliza en *silking* (Ruget y Duburcq, 1983; Fischer y Palmer, 1984), o inmediatamente antes de *silking* (Otegui, 1997; Otegui y Melón, 1997). El NTFE fue medido en todas las combinaciones de tratamientos durante el Exp₂.

El número de granos en la espiga principal (NGE) fue contabilizado a madurez fisiológica. El NGE fue igual al NGP debido a que no se registraron espigas subapicales. La fijación de granos en la espiga apical (FGE) se computó como el cociente entre (i) NGE y NTFE (FGE₁), y (ii) NGE y NTEE (FGE₂). El número de espigas granadas por plantas (i.e., prolificidad) también fue calculado a madurez fisiológica. Todas las espigas con al menos un grano fijado fueron consideradas granadas.

5.2.1.2. Fuentes de pérdida del número de granos por espiga

Se establecieron tres fuentes de pérdidas entre el número de granos potencialmente alcanzable (i.e., NTFE) y el finalmente alcanzado (i.e., NGE). La primera fuente de pérdida (Pérdida 1) fue atribuida a caídas en el NTFE (i.e., restricción morfogénica a nivel de yema axilar). Esta pérdida fue considerada nula en

las parcelas control y computada como se detalla en la ecuación (5.2) en las parcelas de estrés.

$$\text{Pérdida 1 } T_E = \frac{NTFE T_C - NTFE T_E}{NTFE T_C} \quad (5.2)$$

La segunda pérdida (Pérdida 2) correspondió a la proporción de flores que no lograron exponer sus estigmas por fuera de las chalas (i.e., falla en la polinización). Esta pérdida fue computada para cada combinación de tratamiento según se indica en la ecuación (5.3).

$$\text{Pérdida 2} = 1 - \frac{NTEE}{NTFE} \quad (5.3)$$

La tercera pérdida (Pérdida 3) representó la proporción de estigmas polinizados que no produjeron granos, y fue computada para cada combinación de tratamiento según se indica en la ecuación (5.4)

$$\text{Pérdida 3} = 1 - \frac{NGE}{NTEE} \quad (5.4)$$

Esta fuente de reducción del NGE fue considerada como representativa del aborto de granos (Westgate y Boyer, 1986a; Otegui et al., 1995a) dado que se realizaron polinizaciones diarias con polen fresco sobre los estigmas de todas las parcelas calentadas (ver sección 2.2), y se observó la interrupción del crecimiento de los estigmas a las 24 hs de producida la polinización (indicador indirecto del éxito en la polinización; Bassetti y Westgate, 1993a; Bassetti y Westgate, 1993b).

La pérdida absoluta del NGE fue computada según la ecuación (5.5).

$$\text{Pérdida absoluta} = 1 - \frac{NGE}{NTFE T_C} \quad (5.5)$$

donde NGE corresponde a cada combinación de tratamiento (i.e., $M \times H \times RT$) y $NTFE T_C$ corresponde a la parcela control de cada combinación de $M \times H$.

El efecto del golpe de calor sobre algunas de las variables analizadas se computó como la diferencia entre los valores obtenidos en las parcelas de estrés y control.

5.2.2. Análisis estadístico

El efecto de los tratamientos y sus interacciones fueron evaluados a través de los experimentos mediante análisis de varianza. Se realizó un test-t para analizar las diferencias entre medias y análisis de regresión para evaluar las relaciones entre variables. El ajuste de los modelos se realizó mediante el paquete *nls* de R (R-Development-Core-Team, 2011).

5.3. Resultados

5.3.1. Dinámicas de floración

El golpe de calor afectó las dinámicas de floración, provocando diferencias significativas ($P < 0.05$) entre regímenes térmicos en los parámetros que definen la función sigmoidea (cuadro 5.1). En general, estas diferencias fueron mayores cuando los regímenes térmicos contrastantes ocurrieron durante M_1 que durante M_2 , sin

registrarse diferencias significativas entre genotipos. El golpe de calor redujo ($P < 0.005$) la proporción de plantas que alcanzó antesis o *silking* de todas las parcelas de estrés, siendo la floración masculina más sensible a las temperaturas supraóptimas que la floración femenina (cuadro 5.1). Los efectos del golpe de calor sobre los órganos masculinos fueron muy notorios, evidenciándose panojas de menor tamaño y con escasa o nula cantidad de anteras visibles (apreciación visual). La proporción de plantas calentadas que alcanzó antesis fue similar entre momentos de calentamientos durante el Exp₁ (0.76 para M₁ y 0.86 para M₂; promediando entre híbridos), pero difirió marcadamente durante el Exp₂ (0.07 para M₁ y 0.87 para M₂). Por su parte, la proporción de plantas estresadas que alcanzó *silking* fue similar entre momentos de calentamiento y años experimentales (0.86 para M₁ y 0.89 para M₂ en el Exp₁; 0.92 para M₁ y 0.91 para M₂ en el Exp₂).

La incidencia de golpes de calor alrededor de floración provocó retrasos en la fecha de ocurrencia de ambos eventos florales. El drástico efecto del golpe de calor durante prefloración sobre la dinámica de antesis en el Exp₂ (cuadro 5.1), imposibilitó el ajuste de la ecuación (5.1) a los datos y, consecuentemente, el establecimiento de comparaciones estadísticas entre regímenes térmicos. Debido a esta restricción, el efecto del golpe de calor sobre la fecha de ocurrencia de antesis y el intervalo antesis-*silking* sólo pudo evaluarse en el Exp₁. En esta condición de crecimiento, los retrasos en la fecha de antesis sólo fueron significativos cuando el calentamiento ocurrió en etapas previas a floración. La magnitud de este efecto fue de 7.6 días para M₁ y 0.5 para M₂ (promedio entre híbridos) cuando el cálculo se realizó teniendo en cuenta la diferencia entre regímenes térmicos en el parámetro *b*. Esta diferencia fue de 8.4 días para M₁ y 0.6 días para M₂ cuando se consideró la fecha de antesis del 50% de la población total de plantas de cada régimen térmico (datos no mostrados). El mismo análisis aplicado al evento de *silking* reveló diferencias entre las parcelas control y de estrés de (i) 2.8 días para M₁ y 0.8 días para M₂ cuando el análisis se basó en el parámetro *b*, y (ii) 4.1 días para M₁ y 0.5 días para M₂ cuando el análisis consideró el 50% de la población de plantas. Las tendencias descritas del efecto del golpe de calor sobre los eventos florales determinaron reducciones significativas ($P < 0.01$) del IAS_{PP} en las parcelas calentadas durante prefloración (-5.3 días), pero no en las parcelas estresadas durante postfloración (-0.2 días). Este efecto no pudo ser evaluado estadísticamente durante el Exp₂ debido a las mencionadas fallas de antesis.

Las temperaturas supraóptimas redujeron ($P < 0.05$) el ritmo de progreso (i.e., parámetro *c*) de ambos eventos reproductivos durante el Exp₁. Sin embargo, la interacción $M \times RT$ detectada para ambos eventos florales indicó que las diferencias entre regímenes térmicos sólo fueron significativas cuando el estrés ocurrió durante prefloración. Los valores del parámetro *c* registrados para los distintos regímenes térmicos aplicados durante prefloración en el Exp₁ oscilaron entre (i) 1.19 para T_E y 0.64 para T_C considerando la dinámica de antesis, y (ii) 1.64 para T_E y 0.73 para T_C considerando la dinámica de *silking*.

5.3.2. Número de flores potencial y dinámica de emergencia de estigmas

El golpe de calor en prefloración redujo el NTFE en ambos experimentos (-15.5% en Exp₁ y -9.1% en Exp₂; $P < 0.001$; cuadro 5.2). Sin embargo, la interacción $M \times H \times RT$ detectada para este rasgo durante el Exp₂ ($P = 0.008$) indicó que dicha caída fue siempre significativa para los híbridos TeTr y Te. Las reducciones mencionadas en el NTFE determinaron diferencias en los valores de la Pérdida 1 entre regímenes térmicos (Pérdida 1 T_E > Pérdida 1 T_C; $P \leq 0.007$; cuadro 5.3).

Cuadro 5.1. Parámetros que caracterizan la dinámica de antesis y *silking* y duración del intervalo antesis-*silking* de la población de plantas (IAS_{PP}).

| Exp | M | H | RT | Antesis | | | Silking | | | IAS _{PP} | | | |
|---|----------------|------|----------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------|-------------------|--------|------------------|------------------|
| | | | | a | b | c | a | b | c | | | | |
| | | | | d | | | d | | | | | | |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 1.00 | 2.85 | 0.70 | 0.99 | 3.78 | 0.77 | -0.33 | | | |
| | | | T _E | 0.64 | 12.38 | 1.45 | 0.82 | 7.21 | 1.50 | -8.00 | | | |
| | | TeTr | T _C | 0.99 | 2.56 | 0.61 | 0.97 | 2.64 | 0.65 | -1.00 | | | |
| | | | T _E | 0.97 | 10.23 | 1.18 | 0.78 | 6.04 | 2.21 | -3.00 | | | |
| | | Tr | T _C | 0.99 | 3.35 | 0.60 | 1.00 | 3.96 | 0.76 | -0.67 | | | |
| | | | T _E | 0.68 | 9.10 | 0.94 | 0.99 | 5.61 | 1.20 | -7.00 | | | |
| | M ₂ | Te | T _C | 1.00 | 3.26 | 0.87 | 1.00 | 4.95 | 1.59 | 1.33 | | | |
| | | | T _E | 0.71 | 5.11 | 2.21 | 0.83 | 5.81 | 1.06 | 1.50 | | | |
| | | TeTr | T _C | 1.00 | 4.05 | 0.72 | 1.00 | 4.57 | 1.21 | 0.67 | | | |
| | | | T _E | 0.88 | 3.55 | 0.63 | 0.89 | 4.36 | 1.11 | 1.00 | | | |
| | | Tr | T _C | 0.99 | 2.84 | 1.06 | 0.98 | 5.21 | 1.05 | 3.00 | | | |
| | | | T _E | 0.98 | 3.15 | 1.01 | 0.92 | 6.94 | 1.18 | 2.00 | | | |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 1.00 | 3.50 | 0.78 | 1.00 | 2.47 | 1.27 | -1.00 | | | |
| | | | T _E | (0.00) ^a | - | - | 0.85 | 6.68 | 1.04 | - | | | |
| | | TeTr | T _C | 0.95 | 3.12 | 0.43 | 0.99 | 3.07 | 1.29 | 0.33 | | | |
| | | | T _E | (0.18) | - | - | 0.91 | 7.11 | 1.38 | - | | | |
| | | Tr | T _C | 1.00 | 3.27 | 0.68 | 0.98 | 4.38 | 0.98 | 1.00 | | | |
| | | | T _E | (0.04) | - | - | 1.00 | 8.85 | 1.28 | - | | | |
| | M ₂ | Te | T _C | 1.00 | 3.92 | 1.00 | 0.97 | 4.58 | 1.11 | 1.00 | | | |
| | | | T _E | 0.86 | 4.37 | 0.76 | 0.89 | 5.64 | 1.16 | 1.00 | | | |
| | | TeTr | T _C | 0.99 | 1.86 | 0.47 | 0.96 | 1.86 | 0.60 | 0.00 | | | |
| | | | T _E | 0.82 | 1.89 | 0.63 | 0.93 | 1.45 | 0.53 | -1.00 | | | |
| | | Tr | T _C | 0.96 | 2.96 | 0.72 | 0.96 | 3.99 | 0.89 | 1.67 | | | |
| | | | T _E | 0.94 | 4.00 | 0.71 | 0.91 | 4.43 | 1.55 | 1.67 | | | |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | Exps | Exp ₁ | Exp ₂ | Exp ₁ | Exp ₂ | Exps | Exps | Exps | Exp ₁ | Exp ₂ |
| Experimento (Exp) | | | | 0.008 ^b | - | - | - | - | ns | ns | ns | - | - |
| Momento (M) | | | | 0.001 | 0.002 | - | ns | - | ns | ns | ns | 0.009 | - |
| Híbrido (H) | | | | ns | ns | ns | ns | ns | ns | 0.007 | ns | ns | ns |
| Régimen térmico (RT) | | | | <0.001 | <0.001 | ns | 0.04 | ns | <0.001 | <0.001 | 0.002 | 0.002 | ns |
| Exp × M | | | | 0.003 | - | - | - | - | ns | 0.015 | ns | - | - |
| Exp × RT | | | | <0.001 | - | - | - | - | ns | ns | ns | - | - |
| M × H | | | | ns | ns | - | ns | - | ns | ns | 0.01 | ns | - |
| M × RT | | | | <0.001 | <0.001 | - | 0.002 | - | ns | <0.001 | 0.004 | 0.003 | - |
| H × RT | | | | ns | ns | ns | ns | ns | 0.011 | ns | ns | ns | ns |
| Exp × M × H | | | | ns | - | - | - | - | ns | 0.031 | ns | - | - |
| Exp × M × RT | | | | <0.001 | - | - | - | - | ns | ns | <0.001 | - | - |

^a Proporción de la población que alcanza el evento de floración computada como el cociente entre plantas que alcanzan antesis y el total de plantas analizadas.

^b Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

a: máxima proporción de la población que alcanza el evento de floración; b: tiempo al 50% del valor representado por el parámetro a; c: parámetro asociado al ritmo de progreso de la dinámica floral; T_C: control; T_E: estrés por golpe de calor; Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te × Tr.

Cuadro 5.2. Determinantes del número final de granos en la espiga principal (NGE), fijación de granos en dicha espiga (FGE_n) y pérdida de granos.

| Exp | M | H | RT | NTFE | NTEE | NTEE NTFE ⁻¹ | Prolificidad | NGE | FGE ₁ | FGE ₂ | Pérdida absoluta | EGC |
|------------------|----------------|------|----------------|------------------|------|----------------------------|--------------|-----|------------------|------------------|---------------------|-------|
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 682 | - | - | 0.89 | 351 | 0.52 | - | 0.49 | 0.31 |
| | | | T _E | 570 | - | - | 0.78 | 140 | 0.25 | - | 0.80 | |
| | | TeTr | T _C | 670 | - | - | 1.00 | 320 | 0.48 | - | 0.52 | 0.29 |
| | | | T _E | 522 | - | - | 0.85 | 125 | 0.24 | - | 0.81 | |
| | | Tr | T _C | 687 | - | - | 0.96 | 334 | 0.49 | - | 0.51 | -0.01 |
| | | | T _E | 632 | - | - | 1.00 | 339 | 0.54 | - | 0.51 | |
| | M ₂ | Te | T _C | 780 | - | - | 0.89 | 337 | 0.43 | - | 0.57 | 0.40 |
| | | | T _E | 780 ^a | - | - | 0.19 | 23 | 0.03 | - | 0.97 | |
| | | TeTr | T _C | 635 | - | - | 1.00 | 322 | 0.51 | - | 0.49 | 0.30 |
| | | | T _E | 635 | - | - | 0.67 | 130 | 0.21 | - | 0.80 | |
| | | Tr | T _C | 736 | - | - | 0.96 | 392 | 0.53 | - | 0.47 | 0.28 |
| | | | T _E | 736 | - | - | 0.85 | 183 | 0.25 | - | 0.75 | |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 668 | 515 | 0.77 | 1.00 | 392 | 0.59 | 0.76 | 0.41 | 0.43 |
| | | | T _E | 599 | 404 | 0.67 | 0.67 | 108 | 0.18 | 0.27 | 0.84 | |
| | | TeTr | T _C | 627 | 451 | 0.72 | 0.96 | 375 | 0.60 | 0.84 | 0.40 | 0.37 |
| | | | T _E | 522 | 380 | 0.73 | 0.85 | 144 | 0.28 | 0.38 | 0.77 | |
| | | Tr | T _C | 715 | 591 | 0.83 | 1.00 | 464 | 0.65 | 0.79 | 0.35 | 0.37 |
| | | | T _E | 708 | 495 | 0.70 | 0.93 | 200 | 0.29 | 0.42 | 0.72 | |
| | M ₂ | Te | T _C | 727 | 581 | 0.80 | 0.93 | 213 | 0.30 | 0.37 | 0.71 | 0.24 |
| | | | T _E | 678 | 452 | 0.67 | 0.22 | 39 | 0.06 | 0.10 | 0.95 | |
| | | TeTr | T _C | 650 | 529 | 0.82 | 1.00 | 234 | 0.36 | 0.42 | 0.64 | 0.34 |
| | | | T _E | 710 | 438 | 0.62 | 0.19 | 13 | 0.02 | 0.03 | 0.98 | |
| | | Tr | T _C | 723 | 571 | 0.79 | 1.00 | 283 | 0.39 | 0.49 | 0.61 | 0.26 |
| | | | T _E | 722 | 467 | 0.65 | 0.70 | 93 | 0.13 | 0.20 | 0.87 | |

Fuentes de variación y niveles de significancia

| | Exp ₁ | Exp ₂ | Exp ₂ | Exp ₂ | Exps | Exps | Exps | Exp ₂ | Exps | Exps |
|----------------------|------------------|------------------|--------------------|------------------|--------|--------|--------|------------------|--------|-------|
| Experimento (Exp) | - | - | - | - | ns | ns | ns | - | ns | ns |
| Momento (M) | - | ns | 0.046 ^b | ns | 0.014 | 0.004 | 0.002 | 0.001 | 0.003 | ns |
| Híbrido (H) | ns | 0.015 | ns | ns | <0.001 | 0.002 | 0.004 | ns | 0.013 | ns |
| Régimen térmico (RT) | <0.001 | 0.011 | <0.001 | 0.005 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | - |
| Exp × M | - | - | - | - | ns | 0.026 | 0.034 | - | 0.031 | 0.012 |
| Exp × RT | - | - | - | - | 0.021 | ns | ns | - | ns | - |
| M × H | - | ns | ns | ns | 0.021 | ns | ns | ns | ns | ns |
| M × RT | - | 0.005 | ns | ns | <0.001 | ns | ns | ns | ns | - |
| H × RT | ns | ns | ns | ns | 0.001 | ns | ns | ns | ns | - |
| Exp × M × H | - | - | - | - | ns | 0.012 | 0.014 | - | 0.009 | - |
| Exp × M × RT | - | 0.008 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | - |

^a No hubo distinción entre T_E y T_C durante M₂ del Exp₁ (i.e., sólo se midió el NTFE en T_C)

^b Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo (P > 0.05).

EGC: efecto del golpe de calor; FGE₁: fijación de granos en la espiga principal calculada en base al NTFE; FGE₂: fijación de granos en la espiga principal calculada en base al NTEE; NTEE: número total de estigmas emergidos por fuera de las chalas en la espiga principal; NGE: número de granos en la espiga principal; NTFE: número total de flores desarrolladas en la espiga principal; Pérdida absoluta: falla en la fijación de granos respecto al NTFE de referencia (i.e., aquel valor de NTFE de la parcela control correspondiente). T_C: control; T_E: estrés por golpe de calor; Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te × Tr.

Por su parte, el NTEE varió considerablemente como consecuencia de las distintas combinaciones de tratamientos (cuadro 5.2). Los máximos valores de NTEE correspondieron al híbrido Tr ($Tr \geq Te \geq TeTr$; $P = 0.067$), el tratamiento control ($P < 0.001$) y el M_2 ($P < 0.05$), sin detectarse efectos de interacción significativos. Cuando los datos fueron referidos al máximo NTEE de cada combinación de $M \times H$ (figura 5.1), pudo observarse que la máxima proporción de estigmas emergidos fue siempre (i) superior y muy uniforme ($\geq 83.5\%$ del máximo) para las plantas control, y (ii) inferior para las plantas calentadas que alcanzan *silking* tardíamente (varió entre 51.9% para $M_2 \times Tr$ y 78.4% para $M_1 \times TeTr$). El NTEE presentó una amplia variación entre las plantas calentadas, con rangos que oscilaron entre 51.9% y 99.1% para plantas que alcanzaron *silking* en forma tardía o temprana, respectivamente. El golpe de calor tuvo un efecto mayor sobre la dinámica de exposición de estigmas de las plantas que entraron en *silking* más tardíamente, especialmente cuando el calentamiento se produjo durante M_2 (figura 5.1). Las temperaturas supraóptimas redujeron la proporción de flores desarrolladas que lograron exponer sus estigmas por fuera de las chalas (i.e., NTEE/NTEF; cuadro 5.2), independientemente del momento de incidencia del estrés o del genotipo evaluado (0.67 para T_E y 0.79 para T_C). Consecuentemente, se produjo un aumento significativo de la Pérdida 2 (32.5% para T_E y 21.1% para T_C ; $P = 0.005$; cuadro 5.3). Dicho efecto fue mayor cuando el golpe de calor ocurrió durante postfloración (15.5%) que en etapas previas a floración (7.8%).

Cuadro 5.3. Fuentes de pérdida entre el número de granos potencial y el logrado.

| M | H | RT | Experimento 1 | | Experimento 2 | | | | | |
|---|------|----------------|---------------|------|--------------------|-------|-----------|-------|-----------|------|
| | | | Pérdida 1 | EGC | Pérdida 1 | EGC | Pérdida 2 | EGC | Pérdida 3 | EGC |
| M ₁ | Te | T _C | 0.00 | | 0.00 | | 0.23 | | 0.24 | |
| | | T _E | 0.16 | 0.16 | 0.10 | 0.10 | 0.33 | 0.10 | 0.73 | 0.49 |
| | TeTr | T _C | 0.00 | | 0.00 | | 0.28 | | 0.17 | |
| | | T _E | 0.22 | 0.22 | 0.17 | 0.17 | 0.27 | -0.01 | 0.62 | 0.45 |
| | Tr | T _C | 0.00 | | 0.00 | | 0.17 | | 0.22 | |
| | | T _E | 0.08 | 0.08 | 0.01 | 0.01 | 0.30 | 0.13 | 0.60 | 0.38 |
| M ₂ | Te | T _C | - | | 0.00 | | 0.20 | | 0.63 | |
| | | T _E | - | - | 0.07 | 0.07 | 0.33 | 0.13 | 0.91 | 0.28 |
| | TeTr | T _C | - | | 0.00 | | 0.19 | | 0.56 | |
| | | T _E | - | - | -0.09 | -0.09 | 0.38 | 0.19 | 0.97 | 0.41 |
| | Tr | T _C | - | | 0.00 | | 0.21 | | 0.50 | |
| | | T _E | - | - | 0.00 | 0.00 | 0.35 | 0.14 | 0.80 | 0.30 |
| Fuentes de variación y niveles de significancia | | | | | | | | | | |
| Momento (M) | | | - | - | 0.009 ^a | 0.00 | ns | 0.05 | 0.01 | ns |
| Híbrido (H) | | | - | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| Régimen térmico (RT) | | | <0.001 | - | 0.01 | - | 0.01 | - | <0.001 | - |
| M × H | | | - | - | 0.02 | 0.02 | ns | ns | ns | ns |
| M × RT | | | - | - | 0.00 | - | ns | - | ns | - |
| H × RT | | | ns | - | ns | - | ns | - | ns | - |
| M × H × RT | | | - | - | 0.00 | - | ns | - | ns | - |

^a Valor P de los efectos simples e interacciones; ns: no significativo ($P > 0.05$).

EGC: efecto del golpe de calor; Pérdida 1: debido a reducciones en el número de flores desarrolladas; Pérdida 2: debido a fallas en la emisión de estigmas; Pérdida 3: debido al aborto de granos; T_C : control; T_E : estrés por golpe de calor; Te: templado; Tr: tropical; TeTr: $Te \times Tr$.

5.3.3. Prolificidad y número final de granos

El golpe de calor alrededor de floración redujo ($P < 0.001$; cuadro 5.3) el número de espigas granadas por planta, siendo este rasgo más severamente afectado durante el Exp₂ (-40% respecto al control, promediando entre momentos e híbridos) que durante el Exp₁ (-23%). Los efectos de interacción detectados indicaron que la prolificidad fue (i) ≤ 1 para todas las combinaciones de tratamientos (i.e., no existieron segundas espigas fértiles), (ii) similar entre experimentos, momentos e híbridos para plantas no calentadas, y (iii) más afectada por calentamientos durante M₂ (0.57 en Exp₁ y 0.37 en Exp₂) que durante M₁ (0.88 en Exp₁ y 0.82 en Exp₂). Adicionalmente, existieron diferencias entre genotipos en la respuesta al estrés, registrándose una menor prolificidad en el híbrido Te (0.49 en Exp₁ y 0.45 en Exp₂; promedio de las parcelas de estrés) que en los híbridos TeTr (0.76 en Exp₁ y 0.52 en Exp₂) y Tr (0.93 en Exp₁ y 0.82 en Exp₂).

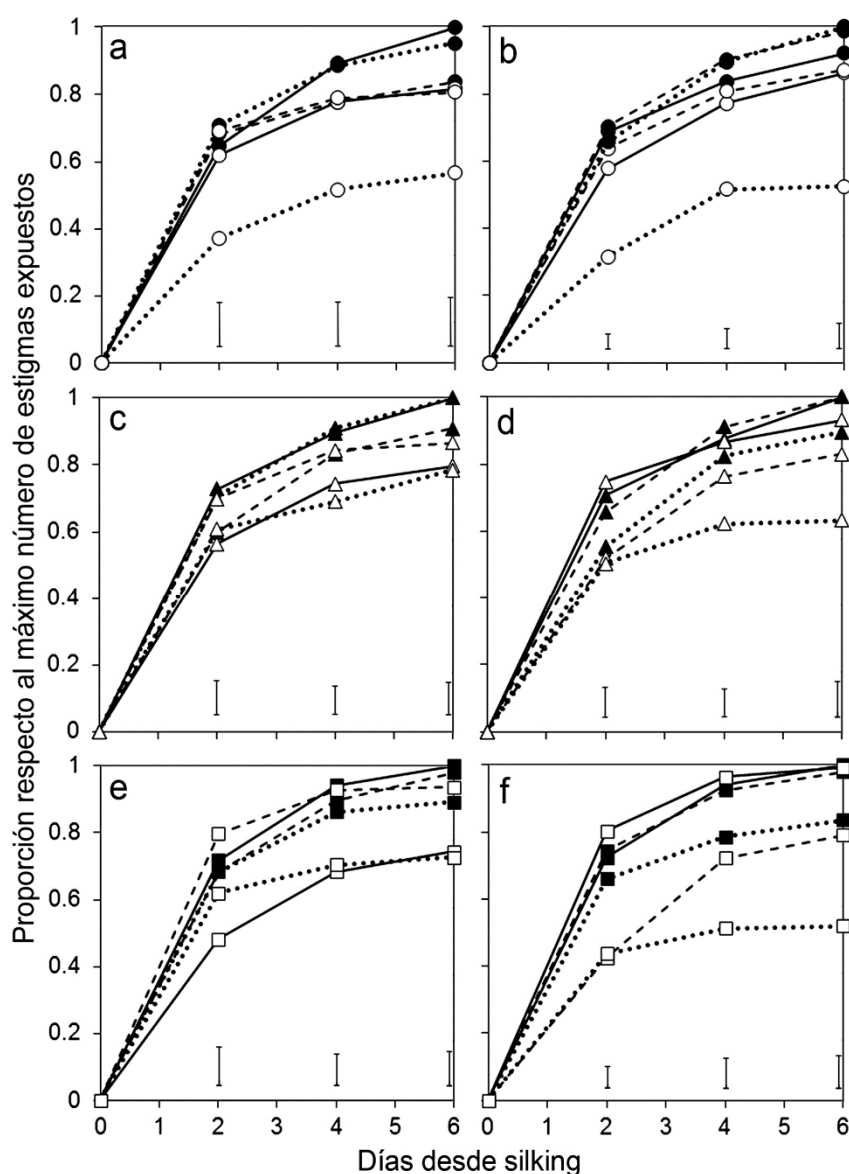
El NGE fue severamente reducido por el golpe de calor ($P < 0.001$; cuadro 5.2). Los efectos negativos del estrés fueron mayores durante M₂ (-68% en Exp₁ y -81.1% en Exp₂ respecto al control, promediando entre híbridos) que durante M₁ (-39.9% en Exp₁ y -63.7% en Exp₂). El análisis interanual no permitió detectar diferencias significativas en la respuesta al golpe de calor entre genotipos ($P = 0.12$ para la interacción $H \times RT$), pero el análisis dentro de cada experimento detectó importantes diferencias entre híbridos ($P = 0.014$) durante el Exp₁. En este experimento, las diferencias en el NGE observadas entre materiales fueron similares a la descrita para prolificidad. El promedio de las parcelas calentadas a lo largo de los momentos estudiados indicó que el híbrido Te fue el más afectado por el golpe de calor (-76.7% en Exp₁ y -77.1% en Exp₂ respecto al control), seguido por los híbridos TeTr (-60.3% en Exp₁ y -78.1%) y Tr (-28.1% en Exp₁ y -62% en Exp₂). Las mayores caídas del NGE registradas en ambos experimentos correspondieron a los híbridos Te (-93.2% en Exp₁) y TeTr (-94.4% en Exp₂) calentados durante M₂.

5.3.4. Fijación de granos

La fijación de granos en la espiga apical calculada en base al número potencial de flores desarrolladas (FGE₁) fue severamente reducida por el golpe de calor en ambos experimentos ($P < 0.001$; cuadro 5.2), siguiendo la misma tendencia que el NGE. La interacción $Exp \times M \times RT$ ($P = 0.014$; cuadro 5.2) detectada para esta variable indicó que los efectos negativos del estrés difirieron entre momentos de calentamiento, siendo esta respuesta diferente entre experimentos. Las reducciones en FGE₁ durante el Exp₁ fueron mayores para M₂ (-33% respecto al control, promediando entre híbridos) que para M₁ (-16%), mientras que la respuesta opuesta fue registrada durante el Exp₂ (-25% para M₂ y -37% para M₁). Los efectos negativos del golpe de calor sobre la FGE₁ tendieron a ser mayores para los híbridos Te (-33% respecto al control; promediando entre experimentos y momentos de calentamiento) y TeTr (-30%) que para el híbrido Tr (-23%). La misma tendencia se evidenció para las Pérdidas absolutas de granos (cuadro 5.2), las cuales fueron significativamente ($P < 0.01$) menores para el híbrido Tr (60%; promediando todas las combinaciones de tratamiento) que para el resto de los genotipos (72% para Te y 68% para TeTr). Esta diferencia fue atribuible a un mejor comportamiento frente al golpe de calor del híbrido Tr (Te 89% \approx TeTr 84% $>$ Tr 71%), ya que no se detectaron diferencias entre genotipos bajo condiciones no estresantes (Te 54% \approx TeTr 51% \approx Tr 49%). Por lo tanto, la proporción de la pérdida absoluta que puede ser atribuible al golpe de calor tendió a ser menor ($P = 0.07$) para el híbrido Tr (22.7%) que para los híbridos TeTr

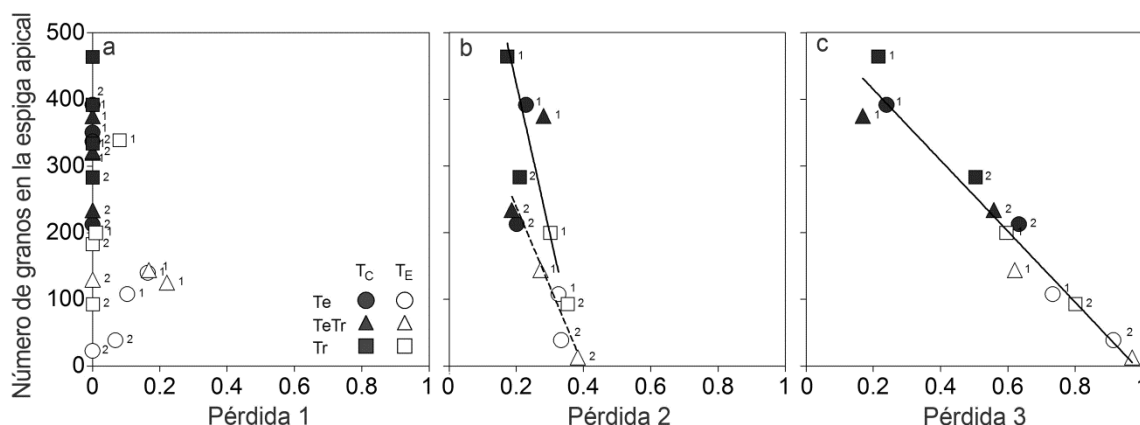
(32.5%) y Te (34.4%). La fijación de granos en la espiga principal calculada en base al número de estigmas expuestos (FGE_2) también fue reducida ($P < 0.001$; cuadro 5.2) por el calentamiento, siendo 61% y 23% para las parcelas control y de estrés, respectivamente (promediando entre híbridos y momentos durante el Exp₂).

Figura 5.1. Dinámica de exposición de estigmas de la espiga principal de plantas representativas de un *stand* que alcanzaran *silking* en fechas tempranas (líneas llenas), intermedias (líneas segmentadas) y tardías (línea punteadas). Dichas plantas corresponden a híbridos de maíz de origen templado (a y b), templado \times tropical (c y d) y tropical (e y f) sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; estrés por golpe de calor: símbolos vacíos) durante los quince días previos (a, c, e) y posteriores (b, d, f) a floración en el experimento 2. Los datos están expresados como la proporción del máximo número de estigmas registrado en cada combinación de M \times H. La fecha en la que se registró la exposición del primer estigma por fuera de las chalas de cualquier individuo del *stand* corresponde al día 1. Las barras verticales representan el error estándar de la media.



El análisis de las fuentes de reducción del número de granos realizado a nivel de espiga permitió identificar al aborto de grano (Pérdida 3) como la principal fuente de reducción del NGE (cuadro 5.3), superando a las pérdidas asociadas al desarrollo de flores (Pérdida 1) y la polinización (Pérdida 2). La magnitud de la caída en cada una de estas fuentes de pérdida que es atribuida exclusivamente al efecto del golpe de calor fue mayor para la Pérdida 3 (38.6%; promedio entre momentos de incidencia e híbridos en el Exp₂), intermedia para la Pérdida 2 (11.3%), y menor para la Pérdida 1 (6.6%). La evaluación de las diferentes fuentes de pérdidas indicó que el número de grano en la espiga principal (i) no respondió a cambios en el número de flores desarrolladas (figura 5.2a), (ii) estuvo asociado a fallas en la polinización ($r^2 \geq 0.69$), pero fue necesario ajustar distintos modelos para cada momento de calentamiento (figura 5.2b), y (iii) tuvo una fuerte relación con el aborto de granos ($r^2 = 0.95$), que pudo ser descrita mediante un único modelo lineal (figura 5.2c).

Figura 5.2. Respuesta del número de granos en la espiga principal a tres fuentes de pérdida que se producen entre el número de granos potencial y el alcanzado. La Pérdida 1 representa caídas atribuibles a reducciones en el número de flores desarrolladas por espiga (a). La Pérdida 2 corresponde a fallas de polinización debido a fallas en la emisión de estigmas (b). La Pérdida 3 identifica caídas asociadas al aborto de ovarios fecundados (c). Los datos corresponden a híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado, Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr) sometidos a dos regímenes térmicos (T_C: control, T_E: golpe de calor) durante los quince días previos (M₁: 1) y posteriores (M₂: 2) a floración en el experimento 2. Las líneas representan las funciones lineales ajustadas. En (b) NGE = 875 – 2254 Pérdida 2, $r^2 = 0.69$, $P < 0.05$ (línea llena para M₁); NGE = 479 – 1198 Pérdida 2, $r^2 = 0.88$, $P < 0.01$ (línea punteada para M₂). En (c) NGE = 521 – 531 Pérdida 1, $r^2 = 0.95$, $P < 0.001$.



5.4. Discusión

5.4.1. Dinámicas de floración

Las temperaturas supraóptimas influyeron sobre las dinámicas de floración, provocando caídas en el número de plantas que alcanzaron antesis y *silking*, retrasos en la fecha de inicio de ambos eventos, y reducciones en el ritmo de progreso de la floración. Esta respuesta fue muy evidente cuando el golpe de calor incidió durante la primera mitad del período crítico para la fijación de granos (Otegui y Andrade, 2000; Westgate et al., 2004), etapa en la cual se inicia el crecimiento activo de la espiga y se alcanza el máximo crecimiento de la panoja (Jacobs y Pearson, 1992b;

Otegui, 1997; Uribealarea et al., 2008). La incidencia del golpe de calor durante postfloración tuvo un leve efecto sobre las dinámicas de antesis y *silking* (sólo hubo diferencias significativas en el parámetro a de ambas dinámicas florales). El escaso efecto del estrés durante postfloración sobre la dinámica de antesis sería atribuido a que en dicho momento se encuentran prácticamente definidos el crecimiento de la panoja y la producción de polen (Horner y Palmer, 1995; Uribealarea et al., 2002). Si bien éste no sería el caso de la espiga, el tamaño alcanzado a inicios del M_2 (ca. 40% del largo final en condiciones no limitantes de crecimiento; Otegui y Bonhomme, 1998) pareció satisfacer el requerimiento mínimo para la emisión de estigmas (Borrás et al., 2007). Estas diferencias en las dinámicas florales observadas entre momentos de calentamiento se mantuvieron entre los genotipos analizados en la presente tesis, y concuerdan con los resultados obtenidos por Cicchino et al. (2010b) para un híbrido de maíz de origen templado.

El retraso observado en las fechas de antesis y *silking* debido al golpe de calor fue una respuesta opuesta al acortamiento esperado frente a incrementos moderados de temperatura, comportamiento usualmente reportado en cultivos de maíz sembrados en fechas de siembra tardías en ambientes templados (Cirilo y Andrade, 1994a; Otegui et al., 1995b). Este hecho no puede ser explicado por medio de modelos de tiempo térmico basados en registros diarios de la temperatura media del aire (Ritchie y NeSmith, 1991), los cuales en condiciones de cultivos rara vez incluyen valores de temperatura superiores al umbral óptimo. Sólo aquellos modelos basados en registros horarios de temperatura (Cicchino et al., 2010a) pueden distinguir entre valores de temperatura por encima y por debajo de los niveles óptimos. Esto permite una adecuada cuantificación de la temperatura acumulada de estrés (TAE; cuadro 3.2), las cuales no contribuyen al normal desarrollo del cultivo.

La respuesta esperada frente a la incidencia de distintos estreses abióticos que tienen lugar durante estadios vegetativos tardíos (i.e., M_1) es un retraso en la fecha de *silking* y prácticamente ningún efecto en la fecha de antesis. Esto se atribuye al crecimiento activo y simultaneo de órganos dentro de la planta con distinta habilidad competitiva por asimilados (panoja \approx entrenudos superiores > espigas; Otegui y Andrade, 2000; Westgate et al., 2004). Por lo tanto, las consecuencias negativas de una reducción en la disponibilidad de asimilados producto de cualquier tipo de estrés es opuesta al rango de jerarquía de los órganos (i.e., las espigas son más afectadas). Una de las consecuencias más característica de este efecto diferencial del estrés es el alargamiento del intervalo antesis-*silking*, ampliamente documentado para condiciones de deficiencias hídricas (Hall et al., 1982; Bolaños y Edmeades, 1993b) o nitrogenadas (Jacobs y Pearson, 1991; D'Andrea et al., 2009). Sorprendentemente, el golpe de calor durante M_1 provocó importantes retrasos en la fecha de antesis de todos los genotipos analizados, los cuales fueron superiores a lo reportado por Cicchino et al. (2010b) para un híbrido templado. Los retrasos en la fecha de antesis superaron incluso a aquellos registrados para la fecha de *silking*, provocando reducciones en el intervalo antesis-*silking*. Adicionalmente, los efectos negativos del golpe de calor durante prefloración sobre el crecimiento de la panoja fueron tan drásticos en el Exp₂ que la mayor parte de las plantas no lograron la apertura de anteras. Esta característica distintiva del golpe de calor podría en parte atribuirse a fallas en la dehiscencia de anteras (Matsui y Omasa, 2002).

5.4.2. Número de flores, exposición de estigmas y fijación de granos

El número de flores desarrolladas se redujo en las espigas analizadas de todos los híbridos cuando el calentamiento se produjo durante prefloración, respuesta similar a aquellas provocadas por densidades supraóptimas (Edmeades et al., 1993; Otegui, 1997), sequías (Hall et al., 1981; Otegui et al., 1995a) y deficiencias de nitrógeno (Jacobs y Pearson, 1992a; Uhart y Andrade, 1995b). Esta respuesta es consecuencia de que en dicho período tiene lugar la mayor parte de la diferenciación de las flores apicales de la espiga, proceso que finaliza muy próximo a la floración femenina (Rugé y Duburcq, 1983; Fischer y Palmer, 1984; Otegui y Melón, 1997; Cárcova et al., 2003; Pagano et al., 2007). Esto explica a su vez la ausencia de efecto del golpe de calor durante postfloración sobre el NTFE. No hubo correlación entre el NTFE y el NGE debido a que dichas variables difirieron notablemente en la magnitud de la respuesta al golpe de calor (caídas del NTFE \ll caídas del NGE) y la etapa de máxima sensibilidad al estrés (M_1 para el primero y M_2 para el segundo). A pesar de la ausencia de correlación, la variación en el número de flores permitió detectar diferencias genotípicas en la sensibilidad al golpe de calor (interacción $M \times H \times RT$ en el Exp₂), la cual no pudo ser atribuida a diferencias en la intensidad del estrés (cuadro 3.2). Esta respuesta mostró un efecto nulo de las altas temperaturas sobre la morfogénesis de la espiga del híbrido Tr, atributo no evidenciado en los restantes genotipos con base genética templada (híbridos Te y TeTr).

El golpe de calor redujo el NTEE debido a los mencionados efectos negativos sobre el NTFE (sólo en M_1), pero también a través de fallas en la exposición de estigmas de flores completamente desarrolladas (en ambos momentos de calentamiento). Esta respuesta no puede contrastarse con evidencias previas dado que hasta el momento no existe información sobre el crecimiento de estigmas de plantas expuestas a condiciones de estrés por golpes de calor. Tampoco es posible establecer comparaciones directas con resultados obtenidos mediante calentamientos localizados en la espiga donde se aplicaron temperaturas inferiores al umbral térmico de 35 °C (Cárcova y Otegui, 2001). Sin embargo, las caídas en el NTEE observadas en este trabajo coinciden con evidencias provenientes de otros estreses abióticos, las cuales atribuyen dichas mermas a una menor tasa de elongación de estigmas (Herrero y Johnson, 1981; Jacobs y Pearson, 1991; Bassetti y Westgate, 1993c). Dicho efecto ha sido a su vez atribuido a caídas en la turgencia de los estigmas y/o en el suministro de asimilados a la espiga. La primera causa es usualmente observada en condiciones de deficiencias hídricas (Westgate y Boyer, 1986b; Sadras y Milroy, 1996), aspecto no limitante en nuestros experimentos dado la aplicación de riegos que mantuvieron al suelo en su capacidad de campo y la ausencia de síntomas asociados a caídas en la turgencia de plantas [e.g. no hubo acartuchamiento de hojas ni reducción del IAF_{R1} (sección 3.3.2)]. La segunda causa es común a la mayoría de los estreses abióticos (Boyle et al., 1991; Edmeades et al., 1993; Schussler y Westgate, 1995; Echarte y Tollenaar, 2006; Pagano et al., 2007; D'Andrea et al., 2008), incluyendo al golpe de calor (Cicchino et al., 2010b). Las respuestas observadas en la dinámica de emisión de estigmas entre categorías extremas de plantas dentro del *stand* (i.e., plantas con *silking* temprano y tardío) permite suponer la predominancia de efectos indirectos (i.e., mediados por el suministro de asimilados a espiga) del golpe de calor sobre la exposición de estigmas, en lugar de efectos directos (i.e., caídas en la turgencia y desecación de estigmas) del estrés. Este hecho sería atribuible a que, en caso de predominar los efectos directo, sería esperable que el golpe de calor afecte la dinámica de emisión de estigmas en todas las categorías de planta del *stand* y sólo en el momento de calentamiento que

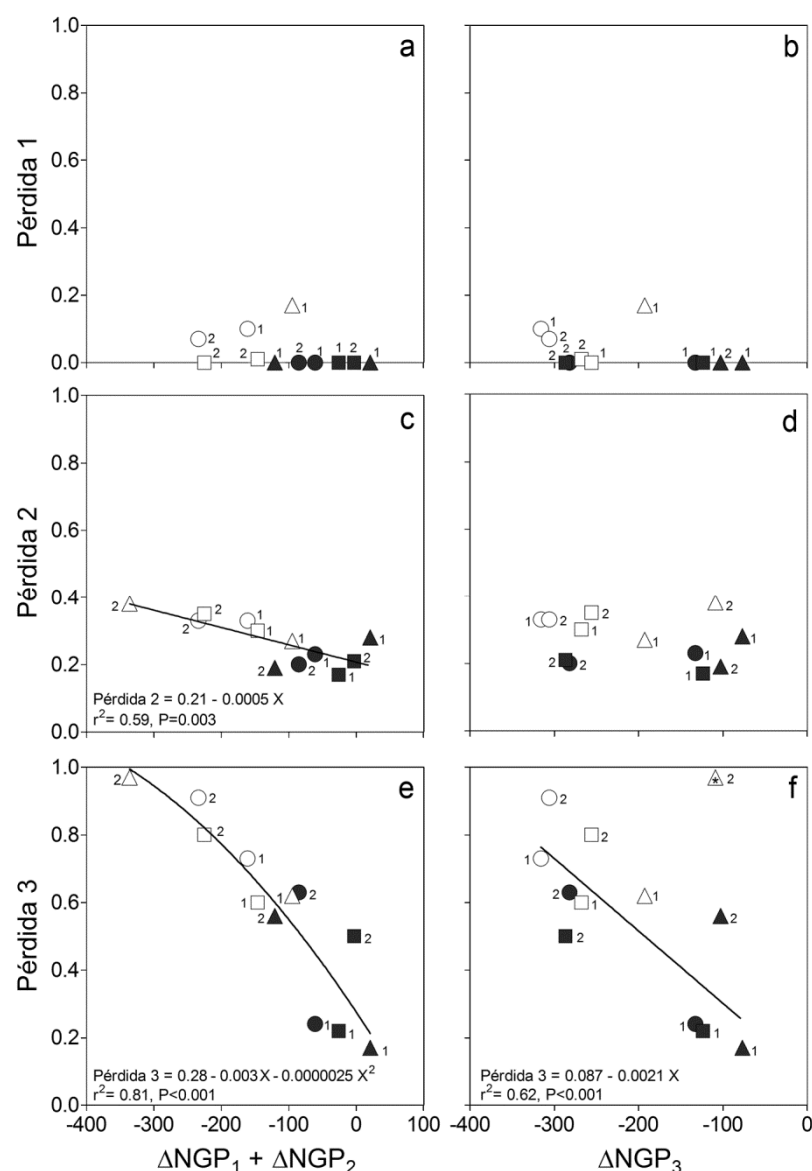
coincide con el período de emergencia de estigmas (M_2). En esta tesis, el golpe de calor sólo alteró la dinámica de emergencia de estigmas de individuos que presentaron *silking* tardío, siendo esta respuesta independiente del momento de calentamiento. Estos resultados constituyen un hallazgo relevante de esta tesis dado que mejoran el entendimiento de la determinación del número de granos en condiciones de estrés. Diferencias en el NTEE entre categorías extremas de plantas también han sido observadas en híbridos de maíz de tolerancia contrastante a densidades supraóptimas creciendo en altas densidades de siembra (Pagano et al., 2007; Pagano y Maddonni, 2007), pero la dinámica de emergencia de estigmas nunca había sido evaluada.

Las fallas mencionadas en la exposición de estigmas no explicaron la variación observada en el NGE en su totalidad, ya que debieron ser ajustados dos modelos para describir la asociación entre el NGE y las pérdidas de granos relativas al NTEE (figura 5.2b). Adicionalmente, las caídas observadas en el NGE fueron siempre de magnitud mucho mayor a la registrada en el NTEE, evidenciando una fuerte caída en la FGE_2 (i.e., fijación de granos relativa al NTEE). Respuestas similares fueron documentadas para sequía (Hall et al., 1981; Herrero y Johnson, 1981), estrés nitrogenado (Jacobs y Pearson, 1991) y alta densidad de plantas (Pagano et al., 2007), las cuales estuvieron asociadas al aborto de granos fecundados (Westgate y Boyer, 1986a; Otegui et al., 1995a). Contrariamente, los efectos negativos del golpe de calor sobre la fijación de granos han sido usualmente atribuidos a fallas de polinización por falta de polen viable (Herrero y Johnson, 1980; Schoper et al., 1986; Schoper et al., 1987). Las consecuencias negativas de esta limitación serían despreciables en esta tesis debido a la aplicación diaria de polen fresco a todas las plantas marcadas. Pero más importante aún, debido a que las caídas en la fijación de granos fueron de similar magnitud entre plantas estresadas que recibieron el polen durante el período de calentamiento (M_2) o luego de la ocurrencia del mismo (M_1). Se encontró una fuerte relación entre el NGE y la proporción de pérdida total atribuible al aborto de granos (figura 5.2c), que pone de manifiesto la existencia de efectos negativos permanentes del estrés sobre la espiga y, consecuentemente, en la fijación de granos. Estos efectos no pueden ser compensados por el suministro de polen proveniente de otros individuos (e.g. mezcla de híbridos comerciales de diferente fecha de antesis), tal como fuera demostrado en condiciones de déficits hídricos (Otegui et al., 1995a).

En el Capítulo 4 se habían identificado tres fuentes de variación del NGP, dos de ellas relacionadas a la disponibilidad de asimilados en la espiga (ΔNGP_1 y ΔNGP_2), y una tercera asociada a fallas en eventos reproductivos (ΔNGP_3). El análisis conjunto de los resultados derivados de los estudios a nivel de planta (Capítulo 4) y de órgano (Capítulo 5) permitió identificar los principales determinantes de las diferentes vías de pérdida. La variación observada en las Pérdidas 2 y 3 estuvo mayormente asociada ($r^2 > 0.59$; $P < 0.003$; figura 5.3) a variaciones en la disponibilidad de asimilados en la espiga ($\Delta NGP_1 + \Delta NGP_2$), mientras que la Pérdida 1 no pudo ser explicada por dicha variable. Por su parte, la ΔNGP debida a fallas en eventos reproductivos explicó parte de la variación observada en la Pérdida 3 (figura 5.3f), sin estar correlacionada con las Pérdidas 1 y 2 (figura 5.3b y 5.3d). Estos resultados refuerzan las conclusiones derivadas del Capítulo 4 y el presente capítulo, y aportan más evidencias para afirmar que en planteos normales de producción (i.e., fechas de siembra y densidades usualmente empleadas para maximizar el rendimiento en grano) las caídas en el número de granos debidas a la incidencia de golpes de calor alrededor de floración se deben principalmente a reducciones en la disponibilidad de asimilados.

Los resultados de este capítulo permitieron aceptar parcialmente la Hipótesis 4, debido al cumplimiento parcial de sus predicciones. La primera predicción establece que de comprobarse la hipótesis existiría un menor número de flores desarrolladas en plantas calentadas que en plantas no calentadas, lo cual sólo pudo comprobarse cuando el estrés se produjo en prefloración y sobre los híbridos Te y TeTr. Por su parte, la segunda predicción establece que de comprobarse la hipótesis existirían distintas dinámicas de emisión de estigmas entre plantas calentadas y no calentadas, respuesta que pudo observarse para todos los momentos y genotipos analizados, pero no para todas las categorías extremas de plantas dentro del *stand*.

Figura 5.3. Relación entre distintas causas de pérdida de granos evaluadas a nivel de espiga (Pérdidas 1, 2 y 3) y distintas fuentes de variación del número de granos asociadas a la disponibilidad de asimilados en la espiga (ΔNGP_1 y ΔNGP_2 ; figuras a, c, e), y fallas en eventos reproductivos (ΔNGP_3 ; figuras b, d, f). Símbolos como en la figura 5.2. Las ecuaciones y líneas llenas representan el modelo ajustado a todo el conjunto de datos, exceptuando al valor indicado con asterisco en la figura f.



5.5. Conclusiones

El golpe de calor incidió negativamente sobre las dinámicas florales y todos los determinantes cuantitativos del NGE (NTFE, NTEE, FGE), pero algunas respuestas no fueron completamente iguales a las registradas para otros estreses abióticos (e.g. efectos en la fecha de antesis y el intervalo antesis-*silking*). Los hallazgos más relevantes de este capítulo fueron (i) la detección de daños permanentes del golpe de calor sobre la capacidad de la espiga para fijar granos que no pudieron atribuirse a los efectos deletéreos del estrés sobre el polen, y (ii) la identificación de variabilidad genotípica en la respuesta al calentamiento para muchos de los rasgos analizados. La menor fijación de granos en espigas calentadas se debió principalmente a un mayor aborto de granos, sin registrarse variaciones importantes debido a fallas en el desarrollo de flores femeninas y en la exposición de estigmas. El híbrido Tr tuvo un mejor comportamiento en condiciones de estrés por golpe de calor respecto al resto de los genotipos, especialmente para prolificidad y FGE.

**Golpe de calor en híbridos de maíz templados y tropicales:
Crecimiento del grano, contenido hídrico y disponibilidad de
asimilados para el llenado de grano^{6.1}**

^{6.1}El contenido de este capítulo fue enviado a la revista Field Crop Research: Rattalino Edreira, J.I., Mayer, L.I., Otegui, M.E., 2013. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Kernel growth, water relations and assimilate availability for grain filling. En revisión (manuscrito FIELD-D-13-00102).

6.1. Introducción

El número de granos es el componente más variable y de mayor importancia en la determinación del rendimiento de maíz (Early et al., 1967) y otros cultivos (Fischer, 1975; Caldiz y Sarandón, 1988; Egli, 1988; Cossani et al., 2009). No obstante, cambios en el peso de granos también tienen un alto impacto sobre el rendimiento, particularmente en ambientes bajo estrés terminal (Cartelle et al., 2006; González et al., 2007). La variación en el peso de grano final refleja la interacción durante el período de llenado de granos entre (i) la capacidad de los tejidos fotosintéticos y de reserva para proveer asimilados (i.e., la fuente de asimilados), y (ii) una demanda generada por los granos en crecimiento (i.e., el destino de asimilados). Esta relación entre fuente y destinos (i.e., F/D) ha recibido bastante atención en los cultivos de grano en general (Fischer y HilleRisLambers, 1978; Simmons et al., 1982; Egli et al., 1985; Ma et al., 1990; Borrás y Otegui, 2001; Borrás et al., 2004). En maíces creciendo en condiciones no limitantes, la fuente de asimilados suele ser suficiente para soportar la demanda de los destinos (Cirilo y Andrade, 1996; Maddonni et al., 1998; Kiniry y Otegui, 2000), por lo que el peso de grano final presenta valores muy próximos a los máximos alcanzables por cada genotipo (Reddy y Daynard, 1983; Gambín et al., 2008). Sin embargo, la incidencia de factores adversos que reducen el crecimiento de la planta durante el llenado efectivo de granos provoca un desbalance entre la demanda de asimilados por parte de los granos (establecida durante la fase *Lag* del llenado de granos; Capitanio et al., 1983; Reddy y Daynard, 1983; Jones et al., 1996) y la oferta de los mismos por parte de la planta, determinando caídas en el peso de grano final (Early et al., 1967; Reed et al., 1988; Westgate, 1994). Dicho efecto es acompañado por incrementos en el uso de asimilados provenientes de reservas del tallo (Jones y Simmons, 1983; Uhart y Andrade, 1995a; Andrade y Ferreiro, 1996), aumentos en la tasa de pérdida de agua (Ouattar et al., 1987b; Westgate, 1994; Borrás et al., 2003b; Sala et al., 2007b) e interrupciones del llenado de granos (Ouattar et al., 1987a; NeSmith y Ritchie, 1992b; Echarte et al., 2006). Esta respuesta ha sido evidenciada para condiciones de sequía, estrés lumínico o defoliación (op. cit.), pero nunca como consecuencia de estrés por golpes de calor. El objetivo de este capítulo fue estudiar la deposición de biomasa en grano (e.g. tasa y duración del llenado de granos) de plantas sometidas a estrés por golpe de calor, y encontrar posibles asociaciones con el contenido hídrico del grano y la disponibilidad de asimilados durante el llenado (fotosíntesis del período y carbohidratos de reserva).

6.2. Materiales y métodos

El diseño experimental y los tratamientos impuestos fueron detallados en el Capítulo 2. En el presente capítulo se incluyen datos provenientes de todas las combinaciones de tratamientos y años experimentales. A continuación se detallan las mediciones y cálculos particulares realizados para la caracterización de los atributos de interés en este capítulo.

6.2.1. Mediciones y cálculos

6.2.1.1. Relación fuente-destino y peso de grano a madurez fisiológica

En el estadio de V_{11} se marcaron cuarenta y seis plantas por parcela y posteriormente se les registró la fecha de *silking*. En nueve de estas plantas se estimó

la biomasa aérea en los estadios ontogénicos de V_{15} , R_1 y R_2 mediante modelos alométricos no destructivos (ver sección 3.2.1). Estas plantas fueron cosechadas a madurez fisiológica para la determinación de la biomasa aérea final. La biomasa de cada planta se utilizó para calcular la TCP_{PC} (en $g\ d^{-1}$) y la producción de biomasa durante el llenado efectivo de granos. La primera se computó a través de la pendiente de la regresión lineal ajustada a la biomasa de planta estimada en V_{15} , R_1 y R_2 en función del tiempo (ver sección 4.2.1.1). La segunda se calculó como la diferencia entre la biomasa observada a madurez fisiológica y la estimada en R_2 . El cociente entre la TCP_{PC} y el NGP fue utilizado como un indicador de la F/D_{PC} , mientras que la relación entre la producción de biomasa durante el llenado efectivo de granos y el NGP se utilizó como indicador de la F/D_{LEG} (Gambín et al., 2006). Para dicho cálculo se excluyeron aquellas plantas con un NGP inferior a 20.

En madurez fisiológica, las espigas de cada planta marcada fueron cosechadas individualmente a mano para la posterior cuantificación del NGP. Los granos fueron pesados para determinar el rendimiento en grano de la planta. El peso individual de los granos se determinó como el cociente entre el rendimiento en grano de la planta y el NGP.

La relación entre el peso de grano y la F/D_{LEG} fue analizada mediante el ajuste de un modelo bilineal [ecuaciones (6.1) y (6.2)].

$$PG = a + b F/D_{LEG} \quad \text{para } F/D_{LEG} \leq c \quad (6.1)$$

$$PG = a + b c \quad \text{para } F/D_{LEG} > c \quad (6.2)$$

donde PG es el peso de grano (en $mg\ grano^{-1}$), a es el peso de grano cuando la $F/D_{LEG} = 0$ (en $mg\ grano^{-1}$), b es la respuesta del peso de grano a cambios en la F/D_{LEG} en la porción de respuesta positiva de la relación (adimensional), c es el valor de F/D_{LEG} por encima del cual no se registran cambios de peso de grano (en $mg\ grano^{-1}$).

6.2.1.2. Dinámica de acumulación de biomasa y contenido hídrico del grano

En las restantes plantas marcadas, se realizaron muestreos periódicos a lo largo del llenado de grano para evaluar la dinámica de acumulación de materia seca y la evolución del contenido de agua del mismo. Los muestreos comenzaron ca. 6-8 días desde *silking* y se extendieron hasta ca. 10-15 días de observarse el estadio de capa negra (Daynard y Duncan, 1969) en los granos de la porción media de la espiga. En cada muestreo se extrajeron ca. 10-15 granos localizados entre las espiguillas 10 y 15 respecto a la base de la espiga. Cada semana se muestrearon dos plantas por parcela, y cada planta permitió la realización de dos muestreos. El primero consistió en abrir las chalas y extraer los granos cuidadosamente para no dañar la espiga, la cual permaneció cubierta por sus chalas hasta el siguiente muestreo de la semana (Cirilo y Andrade, 1996). Los granos de este primer muestreo fueron utilizados exclusivamente para determinaciones de materia seca. El segundo muestreo se efectuó a los 3-4 días de realizado el primero y consistió en extraer los granos de las hileras opuestas a las muestreadas previamente. Los granos de este segundo muestreo se utilizaron para determinación de materia seca, peso húmedo y volumen de grano. Si bien la apertura de chalas puede considerarse como un artefacto de la manipulación que pudiera favorecer una pérdida de humedad más rápida de los granos entre muestreos, se optó por este orden considerando (i) que dicho artefacto sería uniforme para todas las combinaciones de tratamiento, y (ii) de existir un efecto

sería de consecuencia mucho menor sobre la pérdida de agua que el hecho de extraer los granos a campo en un ambiente no saturado de humedad, como se explica a continuación. Consecuentemente, se tomaron recaudos para evitar las pérdidas de agua del grano entre muestreos sucesivos de la misma espiga, como (i) realizar la apertura de chalas cuidadosamente sobre una única cara, (ii) extraer rápidamente los granos del primer muestreo, (iii) volver rápidamente las chalas a su posición original, y (iv) fijar la apertura entre las mismas con una banda elástica que al mismo tiempo no generara una restricción a la expansión de la espiga que limitara el crecimiento de los granos (Gambín et al., 2007a). Por otro lado, para el segundo muestreo las espigas fueron cosechadas y colocadas dentro de una bolsa de polietileno bien sellada (i.e., con mínimo contenido de aire), e inmediatamente transportadas al laboratorio (situado a 50 metros del sitio experimental) donde se realizaron las extracciones de los granos en condiciones controladas de humedad. Esto último consistió en ubicar rápidamente la espiga dentro de una caja acrílica con atmósfera humidificada para prevenir la pérdida de humedad de los granos. Esta condición se logró mediante el agregado periódico de agua a 100 °C a fin de mantener la presión de vapor siempre cercana a saturación (Westgate y Boyer, 1986c; Borrás et al., 2003b). El peso húmedo y el volumen de grano (en μl grano⁻¹) se determinaron inmediatamente para cada muestra de granos extraída en esta condición. La estimación del volumen de grano se realizó mediante la técnica de desplazamiento volumétrico de agua (Kiniry, 1988). El máximo volumen de grano se definió como el máximo valor registrado en cada parcela.

El peso seco del grano se determinó en forma gravimétrica luego de secar los granos en una estufa de aire forzado a 65 °C durante al menos 96 hs. Los pesos húmedo y seco del grano fueron utilizados para estimar el contenido de agua (en mg grano⁻¹) y la concentración de humedad del grano (en mg g⁻¹). El contenido de agua del grano se calculó como la diferencia entre el peso fresco y el peso seco del mismo, mientras que la concentración de humedad se calculó como el cociente entre el contenido de agua y el peso fresco del grano.

La dinámica del contenido de agua del grano se analizó mediante el ajuste de un modelo bilineal [ecuaciones (6.3) y (6.4)].

$$\text{CAG} = d + e \text{ DDS} \quad \text{para } \text{DDS} \leq f \quad (6.3)$$

$$\text{CAG} = d + e f + g (\text{DDS} - f) \quad \text{para } \text{DDS} > f \quad (6.4)$$

donde CAG es el contenido de agua del grano, DDS los días desde *silking*, d el contenido de agua del grano en *silking* (en mg grano⁻¹), e la tasa de acumulación de agua (en mg d⁻¹), f el día donde se registra el máximo contenido de agua del grano, y g la tasa de pérdida de agua luego de alcanzado el máximo contenido (en mg d⁻¹). Este último fue determinado como el valor de contenido de agua computado en f .

La tasa de llenado efectivo del grano y la duración del llenado efectivo del grano fueron determinados mediante el ajuste de los datos a un modelo trilineal [ecuaciones (6.5-6.7)].

$$\text{PG} = T_{\text{Lag}} \text{ DDS} \quad \text{para } \text{DDS} \leq D_{\text{Lag}} \quad (6.5)$$

$$\text{PG} = T_{\text{Lag}} D_{\text{Lag}} + T_{\text{LEG}} (\text{DDS} - D_{\text{Lag}}) \quad \text{para } D_{\text{LG}} \geq \text{DDS} > D_{\text{Lag}} \quad (6.6)$$

$$\text{PG} = T_{\text{Lag}} D_{\text{Lag}} + T_{\text{LEG}} (D_{\text{LG}} - D_{\text{Lag}}) \quad \text{para } \text{DDS} > D_{\text{LG}} \quad (6.7)$$

donde DDS los días desde *silking*, T_{Lag} la tasa de crecimiento del grano durante la fase *Lag* (en mg grano⁻¹ d⁻¹), D_{Lag} es la duración de la fase *Lag* (en días), T_{LEG} la tasa de crecimiento del grano durante el llenado efectivo del grano (en mg grano⁻¹ d⁻¹), D_{LG} la duración del llenado de grano (en días). La duración del llenado efectivo del grano (D_{LEG}) se calculó como la diferencia entre D_{LG} y D_{Lag} .

6.2.1.3. Carbohidratos solubles en agua acumulados en el tallo

El contenido de carbohidratos solubles en agua del tallo se determinó cada quince días desde el estado ontogénico de V_{15} hasta madurez fisiológica. En cada muestreo se cortaron ca. 3-6 plantas por tratamiento (ca. 10-12 plantas en madurez fisiológica) a nivel del suelo y se separó el tallo junto a las vainas (de aquí en adelante a este conjunto se lo denominará tallo) del resto de los órganos de la planta. El tallo de cada planta se secó en estufa hasta peso constante para la posterior cuantificación del contenido de materia seca. En cada uno de estos tallos se determinó la concentración de carbohidratos solubles en agua mediante extracciones secuenciales con etanol y agua, seguida por la determinación mediante el método de anthrona (Yemm y Willis, 1954). El contenido total de carbohidratos solubles en agua almacenados en el tallo (CCSA; en g planta⁻¹) se computó como el producto del peso seco del tallo y la concentración de dichos carbohidratos en el mismo.

El uso de las reservas del tallo durante el llenado efectivo de granos se computó como la diferencia entre los valores de CCSA del tallo observados en R_6 y R_2 .

La relación entre el CCSA del tallo a madurez fisiológica y la F/D_{LEG} fue ajustada para todo el conjunto de datos mediante un modelo bilineal con *plateau* [ecuaciones (6.8) y (6.9)].

$$CCSA = h + i F/D_{LEG} \quad \text{para } F/D_{LEG} \leq j \quad (6.8)$$

$$CCSA = h + i j \quad \text{para } F/D_{LEG} > j \quad (6.9)$$

donde CCSA es el contenido total de carbohidratos solubles en agua presentes en el tallo, h el CCSA cuando la $F/D_{LEG} = 0$ (en mg grano⁻¹), i la pendiente de la función en la porción de respuesta de la relación (en g planta⁻¹ mg⁻¹ grano), y j el valor de F/D_{LEG} por encima del cual no existen incrementos en el CCSA del tallo (en mg grano⁻¹).

6.2.2. Análisis estadístico

El efecto de los tratamientos y sus interacciones fueron evaluados a través de los experimentos mediante análisis de varianza. Se realizó un test-t para analizar las diferencias entre medias y análisis de regresión para evaluar las relaciones entre variables. El ajuste de los modelos se efectuó mediante TBLCURVE (Jandel-Scientific, 1991).

6.3. Resultados

6.3.1. Peso de grano final y llenado de granos

El peso de grano final en las parcelas control difirió entre años experimentales y genotipos, pero no entre fechas de siembra (cuadro 6.1). Este rasgo fue mayor durante el Exp₁ (298 mg grano⁻¹) que durante el Exp₂ (260 mg grano⁻¹; promediando entre híbridos y momentos), y para el híbrido TeTr (299 mg grano⁻¹; promediando entre experimentos y momentos de calentamiento) que para los híbridos Te (275 mg grano⁻¹) y Tr (263 mg grano⁻¹). La variación observada en el peso de grano en las parcelas control fue explicada por la variación en la T_{LEG} ($PG = 97 + 25.4 T_{LEG}$; $r^2 = 0.34$; $P = 0.01$), y no por cambios en la D_{LEG} ($PG = 116 + 4.1 D_{LEG}$; $r^2 = 0.13$; $P = 0.14$).

El golpe de calor redujo ($P < 0.001$) el peso de grano final en la mayoría de las parcelas calentadas, pero la magnitud de este efecto difirió entre híbridos y momentos de calentamiento. Generalmente, el híbrido Te fue más sensible al estrés (-20.4% respecto al control; promediando entre experimentos y momentos) que el resto de los híbridos (-8.6% para TeTr y -6.8% para Tr), pero todos los genotipos fueron más afectados por golpes de calor durante M₃ (-23.1% respecto al control; promediando entre experimentos e híbridos) que durante M₁ (-4.8%) y M₂ (-6.3%). La interacción cuádruple significativa ($P = 0.007$; cuadro 6.1) detectada para esta variable indicó que la mayor caída en el peso de grano debido al estrés correspondió al híbrido Te calentado durante M₃ en el Exp₁ (-52%).

Las variaciones observadas en el peso de grano en las parcelas de estrés fueron explicadas por cambios en la D_{LEG} ($PG = 69 + 5.1 D_{LEG}$; $r^2 = 0.56$; $P < 0.001$) y no por cambios en la T_{LEG} ($PG = 143 + 14.2 T_{LEG}$; $r^2 = 0.09$; $P = 0.29$), debido a que el golpe de calor no tuvo efecto sobre esta última variable (cuadro 6.1). Sin embargo, esta respuesta estuvo principalmente determinada por los acortamientos severos del llenado efectivo de granos provocados por los calentamientos durante M₃ (cuadro 6.1), ya que cuando sólo se consideró a los calentamientos durante el PC, ni la D_{LEG} ($PG = 224 + 1.14 D_{LEG}$; $r^2 = 0.05$; $P = 0.53$) ni la T_{LEG} ($PG = 116 + 4.1 T_{LEG}$; $r^2 = 0.13$; $P = 0.14$) pudieron explicar la pequeña variación observada del peso de grano. El acortamiento del llenado efectivo de granos fue mayor para el híbrido Te (-12.2 días respecto al control; promediando entre experimentos y momentos) que para los híbridos TeTr (-3.2 días) y Tr (-0.5 días), y cuando el golpe de calor ocurrió durante M₃ (-7.3 días; promediando entre experimentos e híbridos) que durante el período crítico (-3.4 días para M₁ y -0.3 días para M₂). Las mayores reducciones del llenado efectivo de granos se produjo en el híbrido Te calentado durante M₃ en ambos experimentos (-21 días en Exp₁ y -13 días en Exp₂; figura 6.1a-c).

6.3.2. Relaciones hídricas y volumen del grano

El golpe de calor alrededor de floración tuvo un efecto pequeño sobre el crecimiento y el contenido hídrico del grano, pero estos rasgos fueron severamente afectados por el calentamiento durante M₃ (cuadro 6.1). Por tal motivo, sólo fueron presentadas las dinámicas de peso seco (figura 6.1a-c), contenido de agua (figura 6.1d-f), concentración de humedad (figura 6.1g-i) y volumen de granos (figura 6.1j-l) pertenecientes al M₃. El contenido de agua del grano en las parcelas control fue similar entre genotipos y fechas de siembra a lo largo del llenado de grano. El golpe de calor causó considerables cambios en dicha dinámica provocando incrementos en la tasa de pérdida de agua del grano (en términos absolutos) luego de alcanzado su

Cuadro 6.1. Número de granos por planta (NGP), peso de grano (PG), tasa (T_{LEG}) y duración (D_{LEG}) del llenado efectivo, contenido de agua del grano (CAG), concentración de humedad del grano a madurez fisiológica ($CHGR_6$), máximo volumen de grano (VG) y relaciones fuente-destino (F/D_n).

| Exp | M | H | RT | NGP | PG | T_{LEG} | D_{LEG} | Máximo CAG | Pérdida de agua ^b | $CHGR_6$ | Máximo VG | F/D_{PC} | F/D_{LEG} |
|------------------|----------------|------|----------------|-----|-----|--------------------|-----------|------------------------|------------------------------|--------------------|------------------------|--|------------------------|
| | | | | | mg | mg d ⁻¹ | d | mg grano ⁻¹ | mg d ⁻¹ | mg g ⁻¹ | μL grano ⁻¹ | mg d ⁻¹ grano ⁻¹ | mg grano ⁻¹ |
| Exp ₁ | M ₁ | Te | T _C | 351 | 297 | 6.9 | 42 | 196 | -1.8 | 372 | 383 | 15 | 101 |
| | | | T _E | 140 | 277 | 7.1 | 38 | 200 | -1.8 | 417 | 351 | 21 | 449 |
| | | TeTr | T _C | 320 | 340 | 8.1 | 42 | 204 | -1.3 | 366 | 432 | 14 | 261 |
| | | | T _E | 125 | 308 | 8.7 | 35 | 216 | -2.7 | 396 | 421 | 26 | 590 |
| | | Tr | T _C | 334 | 298 | 6.4 | 44 | 196 | -1.0 | 401 | 375 | 14 | 163 |
| | | | T _E | 339 | 291 | 6.2 | 46 | 187 | -1.1 | 378 | 373 | 8 | 262 |
| | M ₂ | Te | T _C | 337 | 280 | 6.3 | 44 | 194 | -1.3 | 386 | 372 | 16 | 56 |
| | | | T _E | 23 | 242 | - | - | - | - | - | - | 27 | 309 |
| | | TeTr | T _C | 322 | 309 | 8.3 | 36 | 193 | -2.4 | 373 | 402 | 17 | 58 |
| | | | T _E | 130 | 285 | 8.2 | 35 | 195 | -2.4 | 362 | 405 | 26 | 362 |
| | | Tr | T _C | 392 | 248 | 6.2 | 41 | 168 | -2.3 | 386 | 349 | 11 | 110 |
| | | | T _E | 183 | 242 | 6.2 | 42 | 168 | -1.9 | 405 | 401 | 21 | 288 |
| | M ₃ | Te | T _C | 439 | 288 | 7.2 | 38 | 179 | -1.7 | 382 | 385 | 10 | 196 |
| | | | T _E | 369 | 139 | 7.2 | 17 | 172 | -5.3 | 547 | 264 | 13 | -42 |
| | | TeTr | T _C | 388 | 328 | 8.4 | 40 | 207 | -2.5 | 333 | 415 | 13 | 201 |
| | | | T _E | 350 | 310 | 7.9 | 40 | 188 | -1.9 | 332 | 382 | 15 | 181 |
| | | Tr | T _C | 383 | 298 | 7.3 | 40 | 161 | -1.8 | 355 | 360 | 11 | 185 |
| | | | T _E | 239 | 236 | 6.0 | 35 | 157 | -3.6 | 403 | 281 | 16 | 72 |
| Exp ₂ | M ₁ | Te | T _C | 392 | 282 | 6.9 | 42 | 194 | -1.7 | 361 | 399 | 12 | 216 |
| | | | T _E | 108 | 235 | 8.6 | 32 | 192 | -3.0 | 421 | 370 | 27 | 594 |
| | | TeTr | T _C | 375 | 260 | 8.0 | 36 | 197 | -2.2 | 384 | 393 | 9 | 253 |
| | | | T _E | 144 | 259 | 8.5 | 33 | 202 | -2.3 | 416 | 413 | 19 | 438 |
| | | Tr | T _C | 464 | 252 | 6.5 | 42 | 175 | -2.0 | 356 | 383 | 8 | 273 |
| | | | T _E | 200 | 267 | 6.5 | 43 | 196 | -2.1 | 346 | 410 | 9 | 442 |
| | M ₂ | Te | T _C | 213 | 254 | 7.0 | 40 | 199 | -2.0 | 387 | 422 | 17 | 255 |
| | | | T _E | 39 | 268 | 7.6 | 33 | 212 | -2.3 | 365 | 354 | 20 | 449 |
| | | TeTr | T _C | 234 | 279 | 7.6 | 39 | 188 | -1.9 | 369 | 403 | 12 | 322 |
| | | | T _E | 13 | 238 | - | - | - | - | - | - | 31 | 722 |
| | | Tr | T _C | 283 | 266 | 6.5 | 38 | 161 | -2.6 | 385 | 391 | 8 | 305 |
| | | | T _E | 93 | 237 | 7.2 | 35 | 182 | -3.0 | 409 | 350 | 14 | 553 |
| | M ₃ | Te | T _C | 406 | 251 | 7.2 | 36 | 185 | -2.2 | 381 | 358 | 9 | 185 |
| | | | T _E | 391 | 174 | 7.6 | 23 | 184 | -3.3 | 457 | 312 | 10 | -1 |
| | | TeTr | T _C | 318 | 276 | 7.5 | 39 | 175 | -3.3 | 317 | 361 | 13 | 188 |
| | | | T _E | 317 | 232 | 7.4 | 34 | 178 | -2.8 | 346 | 328 | 12 | 108 |
| | | Tr | T _C | 450 | 216 | 6.6 | 35 | 173 | -2.5 | 396 | 342 | 6 | 159 |
| | | | T _E | 389 | 187 | 5.8 | 36 | 155 | -2.3 | 384 | 298 | 9 | 103 |

Fuentes de variación y niveles de significancia

| Experimento (Exp) | ns | 0.001 ^a | ns | ns | ns | 0.003 | ns | ns | ns | 0.004 |
|----------------------|--------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Momento (M) | <0.001 | <0.001 | ns | 0.008 | <0.001 | <0.001 | ns | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Híbrido (H) | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.013 | <0.001 | 0.003 | 0.005 | 0.039 |
| Régimen térmico (RT) | <0.001 | <0.001 | ns | <0.001 | ns | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Exp × M | ns | 0.010 | ns | ns | ns | 0.010 | ns | ns | ns | <0.001 |
| Exp × H | ns | <0.001 | 0.046 | ns | 0.002 | 0.003 | 0.034 | ns | ns | ns |
| Exp × RT | ns | ns | ns | ns | ns | 0.010 | ns | ns | ns | ns |
| M × H | 0.008 | <0.001 | ns | <0.001 | 0.015 | <0.001 | <0.001 | ns | ns | ns |
| M × RT | <0.001 | <0.001 | ns | ns | 0.009 | 0.020 | 0.008 | 0.001 | <0.001 | <0.001 |
| H × RT | ns | 0.001 | ns | <0.001 | ns | <0.001 | <0.001 | 0.010 | ns | ns |
| Exp × M × H | 0.035 | 0.020 | ns | ns | ns | <0.001 | 0.026 | ns | ns | ns |
| Exp × M × RT | 0.002 | ns | ns | ns | ns | 0.004 | ns | 0.019 | ns | ns |
| M × H × RT | ns | 0.001 | ns | ns | ns | <0.001 | 0.005 | ns | ns | 0.037 |
| Exp × M × H × RT | ns | 0.007 | ns | ns | 0.017 | <0.001 | ns | ns | ns | ns |

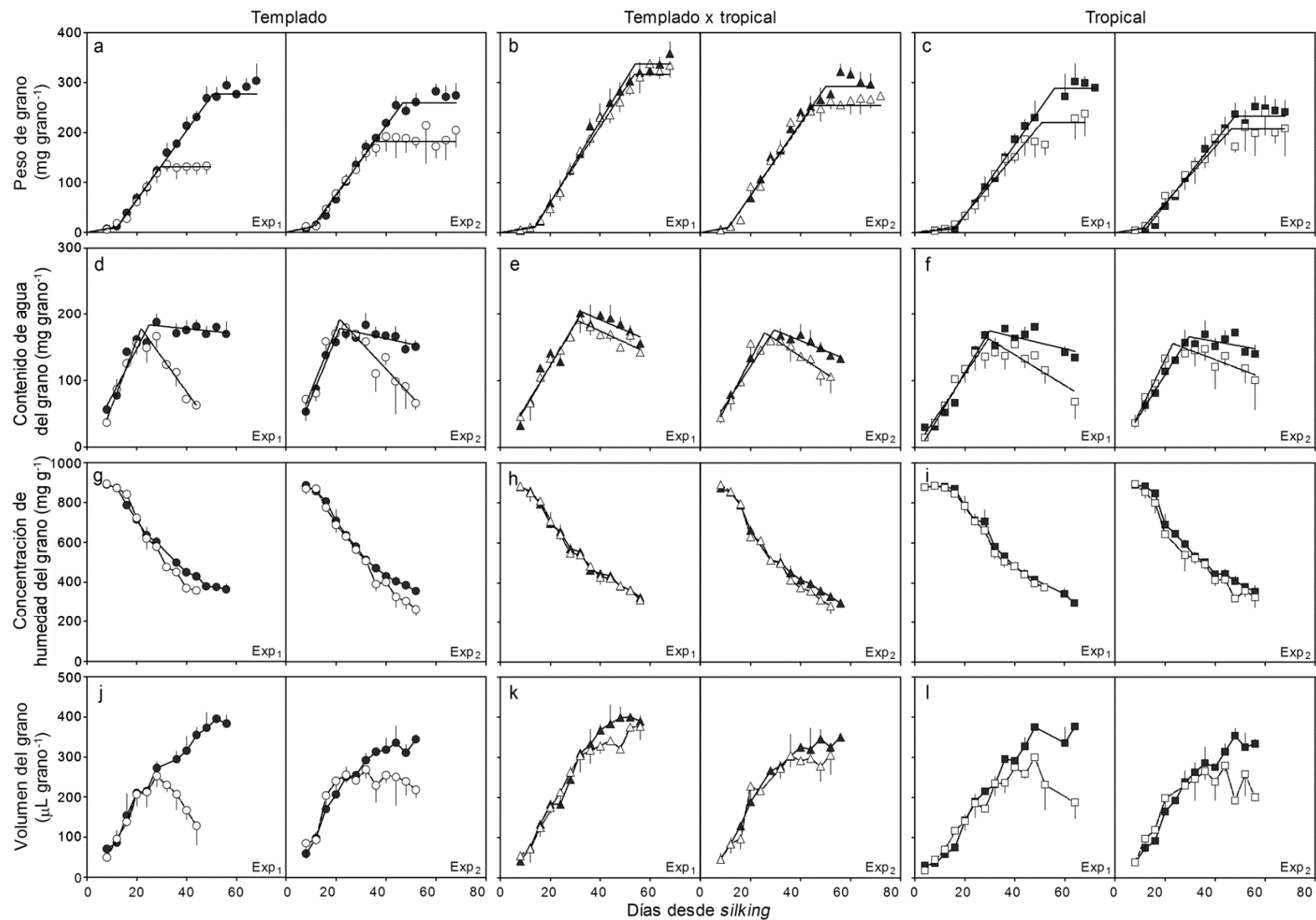
^a Valor P de los efectos simples e interacciones para las cuales al menos una variable fue detectada significativa; ns: no significativo ($P > 0.05$).

^b Pérdida de agua: tasa de pérdida de agua una vez alcanzado el máximo contenido de agua del grano; F/D_{PC} : relación fuente-destino durante el período crítico para la fijación de granos; F/D_{LEG} : relación fuente-destino durante el llenado efectivo de granos; T_C : control; T_E : estrés por golpe de calor; Te : templado; Tr : tropical; $TeTr$: $Te \times Tr$.

máximo contenido hídrico, pero no en el máximo contenido de agua del grano (cuadro 6.1). La tasa de pérdida de agua del grano fue más afectada por el golpe de calor durante M_3 (53% respecto al control; promediando entre experimentos e híbridos) que durante M_1 (33%) y M_2 (3%). Adicionalmente, el híbrido Te evidenció los mayores incrementos en dicha variable producto del estrés durante M_3 (132% respecto al control; promediando entre experimentos), superando al resto de los genotipos (-19% para $TeTr$ y 45% para Tr). La tasa de pérdida de agua del grano (parámetro g en la ecuación 6.4.) condicionó en forma directa la duración del llenado ($D_{LEG} = 51 + 5.8g$; $r^2 = 0.71$; $P < 0.001$). En su conjunto, estos resultados indican que el estrés por golpe de calor afectó el contenido de agua del grano a través de aumentos en la tasa de pérdida de agua del grano y, en mucha menor medida, a través de caídas en la acumulación de agua del grano.

La concentración de humedad del grano en las parcelas control se redujo gradualmente a lo largo del llenado de granos, siguiendo un patrón similar entre los momentos e híbridos analizados. En promedio, la concentración de humedad del grano registrado en cada genotipos a madurez fisiológica fue de 378 mg g^{-1} para Te , 357 mg g^{-1} para $TeTr$ y 380 mg g^{-1} para Tr (promediando las parcelas control a lo largo de experimentos y momentos). El golpe de calor alrededor de floración no afectó la dinámica de humedad del grano, pero sí lo hizo cuando el calentamiento se produjo durante el M_3 , especialmente en el híbrido Te (figura 6.1g). En dicho tratamiento, la dinámica de humedad del grano siguió el mismo patrón que su respectivo tratamiento control hasta poco después de alcanzada la madurez fisiológica en el tratamiento de estrés, la cual estuvo sustancialmente anticipada respecto al control. A partir de ese momento se observaron menores valores de concentración de humedad del grano en las parcelas de estrés que en las parcelas control. El híbrido Te calentado durante M_3 exhibió los máximos valores de concentración de humedad del grano a madurez fisiológica en ambos experimentos (547 mg g^{-1} en Exp_1 y 458 mg g^{-1} en Exp_2).

Figura 6.1. Dinámica de peso seco (a-c), contenido de agua (d-f), concentración de humedad (g-i) y volumen (j-l) del grano en tres híbridos de maíz de fondo genético templado (círculos), templado \times tropical (triángulos) y tropical (cuadrado) sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) durante la primera mitad del llenado efectivo de grano (M_3) en dos años experimentales. Las flechas indican el momento de madurez fisiológica de cada condición.



El volumen de grano en las parcelas control aumentó durante el período de llenado de granos, alcanzando un valor máximo en días cercanos a la madurez fisiológica (Figura 6j-l). El máximo volumen de grano varió entre 342 y 432 $\mu\text{l grano}^{-1}$ entre todas las combinaciones de tratamiento de las parcelas control, sin encontrarse grandes diferencias entre genotipos (387 $\mu\text{l grano}^{-1}$ para Te, 401 $\mu\text{l grano}^{-1}$ para TeTr y 367 $\mu\text{l grano}^{-1}$ para Tr, promedio de las parcelas control a lo largo de experimentos y momentos; cuadro 6.1). El máximo volumen de grano no fue afectado por el calentamiento alrededor de la floración (-2% para M_1 y 0% M_2 respecto al control; promediando entre experimentos e híbridos), pero se redujo fuertemente producto del calentamiento durante M_3 (-16%; cuadro 6.1). El híbrido Te fue más sensible al golpe de calor durante M_3 , registrando mayores reducciones del máximo volumen de grano (-22% respecto al control; promediando entre experimentos) que los híbridos TeTr (-9%) y Tr (-17%). Adicionalmente, el calentamiento del híbrido Te provocó una disminución marcada del volumen de grano una vez alcanzado el máximo valor (figura 6.1j), determinando la presencia de granos pequeños y arrugados (apreciación visual) a madurez fisiológica.

6.3.3. Relación fuente-destino y peso de grano

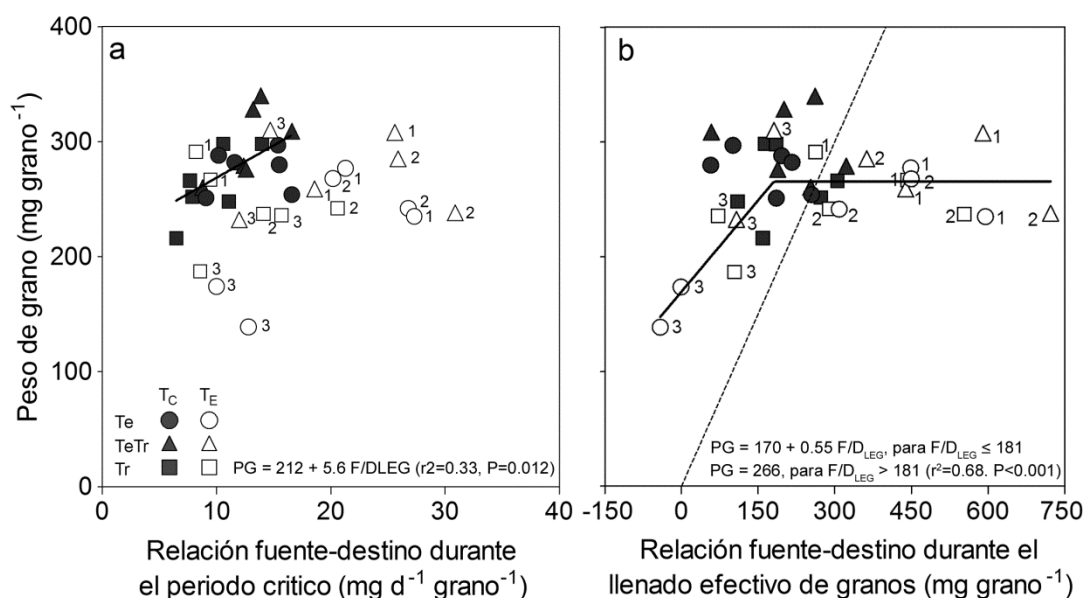
Tal como fuera descrito en los capítulos anteriores, el golpe de calor afectó el crecimiento de la planta (Capítulo 4) y la fijación de granos (Capítulo 5), siendo la magnitud de estos efectos dependiente del momento de incidencia del estrés. Brevemente, el estrés por calor alrededor de la floración (M_1 y M_2) afectó negativamente la TCP_{PC} , mientras que el calentamiento durante M_3 redujo el crecimiento de planta durante el llenado efectivo de granos. El híbrido Te tendió a presentar las mayores caídas de crecimiento ($Te \geq Tr \geq TeTr$) a lo largo de todos los momentos de calentamiento. Por su parte, el NGP sólo fue afectado por calentamientos alrededor de floración (excepto para el híbrido Tr calentado durante M_3 en el Exp₁), especialmente durante la segunda mitad del PC. Las mayores caídas del NGP producto del golpe de calor alrededor de floración se produjeron sobre el híbrido Te (-66% para M_1 y -87% para M_2 respecto al control; promediando entre experimentos), seguido por los híbridos TeTr (-61% para M_1 y -77% para M_2) y Tr (-28% para M_1 y -60% para M_2).

La F/D_{PC} en las parcelas control fue similar entre momentos de calentamiento e híbridos (cuadro 6.1), pero el golpe de calor alrededor de floración provocó incrementos importantes en dicha variable. El peso de grano final en las parcelas control estuvo pobremente ($r^2 = 0.33$; $P = 0.012$) relacionado con la F/D_{PC} , y la mayor parte de las parcelas de estrés se encontraron por debajo de esta relación (figura 6.2a). La F/D_{LEG} en las parcelas control varió entre 57 y 322 mg grano^{-1} a lo largo de todas las combinaciones de tratamiento. Esta variación estuvo principalmente asociada a los experimentos y en menor medida a las fechas de siembra, sin existir diferencias significativas entre genotipos. El golpe de calor modificó la F/D_{LEG} en ambos sentidos (i.e., aumentos y disminuciones) dependiendo del momento de incidencia del estrés, determinando un aumento en el rango de variación de la F/D_{LEG} (entre -42 y 722 mg grano^{-1}). Los calentamientos alrededor de floración incrementaron la F/D_{LEG} (140% para M_1 y 235% para M_2 respecto al control; promediando entre experimentos e híbridos), mientras que el estrés durante M_3 provocó reducciones en dicha variable (-62% para M_3). El híbrido Te tendió a presentar los mayores incrementos en la F/D_{LEG} cuando los calentamientos se produjeron alrededor de floración (261% para Te, 210% para TeTr y 91% para Tr; promedio entre M_1 y M_2 a lo largo de los experimentos) y las mayores caídas cuando

el golpe de calor incidió durante el M_3 (-111% para Te, -26% para TeTr y -61% para Tr; promediando entre experimentos).

Las variaciones del peso de grano final fueron explicadas por la F/D_{LEG} a través de un modelo bilineal con *plateau* ($r^2 = 0.41$; $P < 0.001$). Los datos, sin embargo, no tuvieron una distribución aleatoria respecto al mismo, verificándose una distribución de residuos positiva para los tratamientos control (189 ± 30 de residuales) y negativa para los tratamientos de estrés (-189 ± 30 de residuales). Más aún, se observó una aparente declinación del peso de grano con el aumento de la F/D_{LEG} por encima de $181 \text{ mg grano}^{-1}$, carente de sentido biológico. Consecuentemente se ajustó un modelo bilineal exclusivamente a los datos provenientes de parcelas de estrés (figura 6.2b), con lo cual las tendencias mencionadas desaparecieron. Dicho análisis identificó un punto de quiebre en $170 \text{ mg grano}^{-1}$, por encima del cual el peso de grano se mantuvo constante. Por debajo de este valor umbral se observaron caídas de peso a una tasa de 0.53 mg por unidad de caída en la F/D_{LEG} . Para los tratamientos control no se pudo establecer una tendencia entre las variables analizadas debido al rango estrecho de F/D_{LEG} explorado.

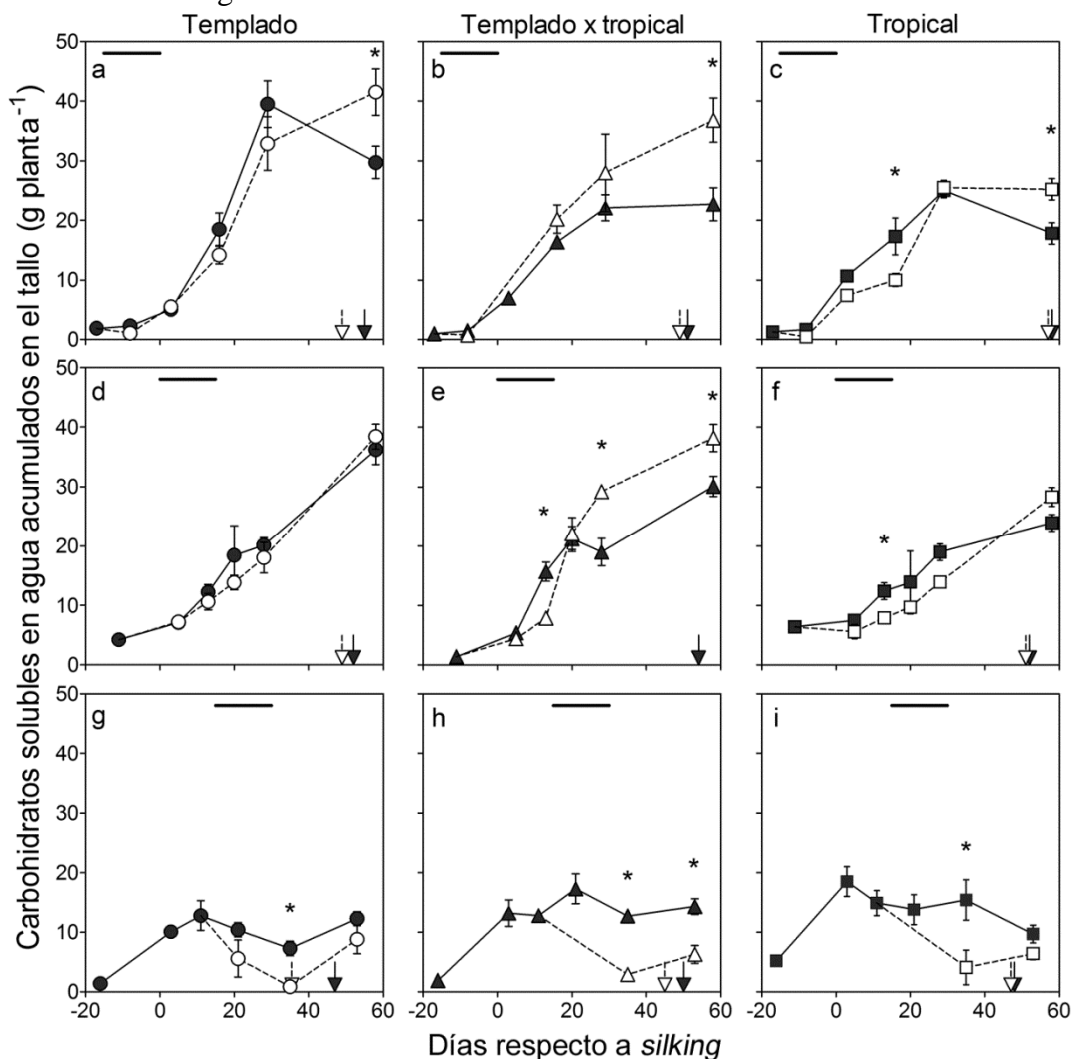
Figura 6.2. Relación entre el peso de grano y la relación fuente-destino durante (a) el período crítico, y (b) el llenado efectivo del grano. Los datos corresponden a tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado; Tr: tropical; TeTr: $Te \times Tr$) expuestos a dos regímenes térmicos (T_C : control; T_E : golpe de calor) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M_1 : 1, M_2 : 2; M_3 : 3) y dos años experimentales. En (a), la línea llena representa el modelo lineal ajustado a los tratamientos control. En (b), la línea punteada representa la relación 1:1 y la línea llena el modelo bilineal (6.1-6.2) ajustado a los tratamientos de estrés.



6.3.4. Carbohidratos solubles en agua acumulados en el tallo

El CCSA acumulado en el tallo de plantas no calentadas fue bajo al inicio del período crítico en todas las combinaciones de tratamiento, con valores que oscilaron entre 1 y $6.4 \text{ g planta}^{-1}$. Desde ese momento en adelante, el patrón de acumulación del CCSA difirió principalmente entre fechas de siembra y en menor medida entre genotipos dentro de cada fecha de siembra (figura 6.3). Estas parcelas en las fechas

Figura 6.3. Evolución del contenido de carbohidratos solubles en el tallo de plantas de tres híbridos de maíz de fondo genético contrastante sometidos a dos regímenes térmicos (control: símbolos llenos; golpe de calor: símbolos vacíos) durante tres momentos del ciclo del cultivo (M_1 : a-c; M_2 : d-f; M_3 : g-i) en el experimento 2. Las flechas señalan la fecha de madurez fisiológica. Las barras verticales indican el desvío estándar de la media y las horizontales representan el período de calentamiento. Los asteriscos indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos de régimen térmico.



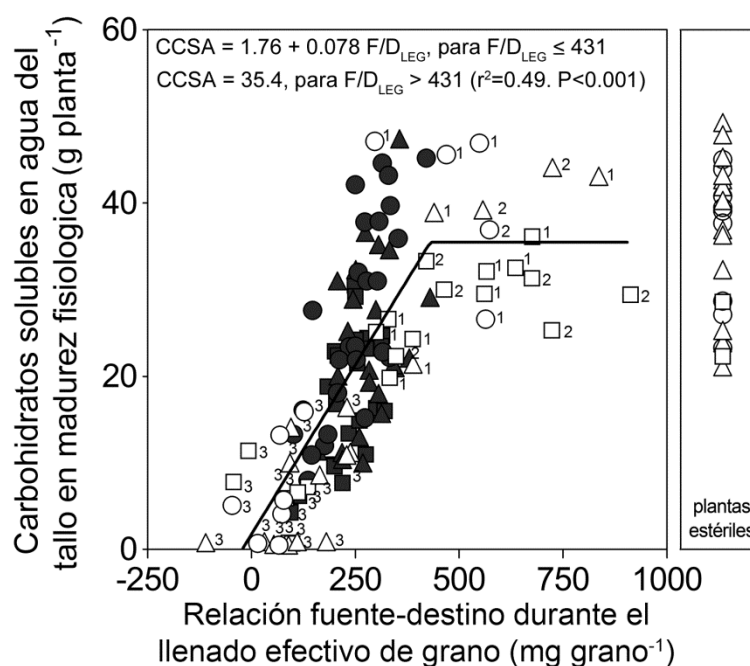
de siembra tardía (M_1) e intermedia (M_2) presentaron un incremento sostenido del CCSA en tallo hasta fechas próximas a la madurez fisiológica, mientras que en la fecha de siembra más temprana (M_3) se mantuvo relativamente constante a partir de ca. 10-20 días después de *silking*.

El golpe de calor redujo el CCSA del tallo durante el período de calentamiento, aunque este efecto fue más evidente y significativo ($P < 0.05$) cuando el estrés se produjo en etapas más avanzadas del cultivo ($M_3 > M_2 > M_1$; figura 6.3). Luego de la finalización del estrés, las plantas sujetas a golpes de calor alrededor de floración tendieron a incrementar el CCSA respecto a sus respectivos controles, y en muchos casos, el CCSA a madurez fisiológico fue superior al registrado en plantas no estresadas (figura 6.3a-f). Contrariamente, la incidencia de temperaturas supraóptimas durante M_3 provocó caídas drásticas del CCSA del tallo (figura 6.3g-i), registrándose valores mínimos en muestreos próximos a madurez fisiológica (de aquí

en adelante se denominarán muestreos de madurez fisiológica). Este efecto fue más pronunciado para el híbrido Te, el único genotipo en el cual se evidenció (i) el agotamiento total del CCSA del tallo (figura 6.3g), y (ii) la llegada muy anticipada a madurez fisiológica del tratamiento de estrés respecto al tratamiento control (figura 6.1a).

La variación observada en la F/D_{LEG} explicó satisfactoriamente ($r^2 = 0.49$; $P < 0.001$) la variación del CCSA del tallo a madurez fisiológica (figura 6.4). Los datos de todas las combinaciones de tratamiento fueron ajustados a un modelo bilineal con *plateau* [ecuaciones (6.8) y (6.9)] que identificó un valor de F/D_{LEG} umbral (431 mg grano^{-1}) por encima del cual el CCSA permaneció constante y alcanzó un máximo. Por debajo de este umbral, el CCSA en el tallo se redujo abruptamente con niveles decrecientes de F/D_{LEG} (78 mg planta^{-1} por unidad de caída en la F/D_{LEG}) hasta que las reservas de carbohidratos fueron completamente agotadas (i.e., CCSA = 0). Esto último se alcanzó con $F/D_{LEG} \sim 0 \text{ mg grano}^{-1}$. El peso de grano tendió a disminuir con reducciones en el CCSA en tallo durante el llenado efectivo de granos, pero existió una pobre relación ($r^2 = 0.32$; $P = 0.015$) entre dichas variables (datos no mostrados).

Figura 6.4. Relación entre el contenido de carbohidratos solubles en agua acumulados en el tallo a madurez fisiológica y la relación fuente-destino durante el llenado efectivo de grano. Símbolos como en la figura 6.2. Los datos corresponden a plantas individuales. La línea llena corresponde al modelo bilineal con *plateau* (6.8 - 6.9) ajustado a todo el conjunto de datos.



6.4. Discusión

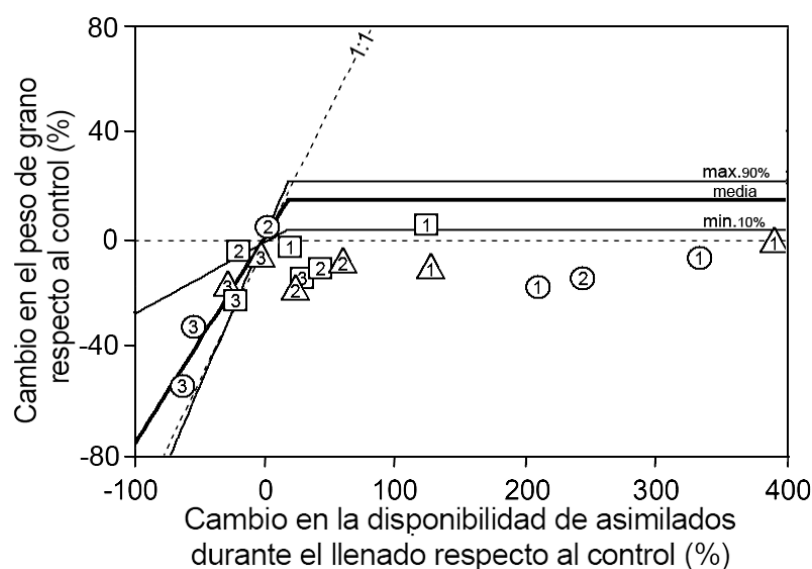
La F/D_{PC} explicó las variaciones observadas en el peso de grano final de los tratamientos control (figura 6.2a), concordando con evidencias previas que indican que las plantas de maíz establecen el tamaño potencial del grano durante la etapa temprana de desarrollo del mismo (Capitanio et al., 1983; Reddy y Daynard, 1983; Jones et al., 1996). Sin embargo, esta respuesta no fue observada en las parcelas calentadas durante el periodo crítico para la fijación de granos (i.e., M_1 y M_2), en las

cuales el peso de grano final se encontró generalmente por debajo de la relación antes descrita para los tratamientos control, a pesar de sus altos valores de F/D_{PC} . Este efecto persistió aun cuando el análisis se realizó considerando la partición de biomasa hacia la espiga (i.e., cálculo de F/D teniendo en cuenta la TCE_{PC} ; datos no mostrados). Estos resultados difieren de aquellos registrados por Gambín et al. (2008), quienes reportaron incrementos en el peso de grano final debido a mejoras en la F/D_{PC} causadas por raleos próximos a floración, e igual patrón de respuesta entre parcelas raleadas y no raleadas (i.e., un único modelo lineal ajusta a todo el set de datos). En su conjunto, los resultados sugieren que las reducciones observadas en el peso de grano potencial estarían relacionadas a restricciones que no están asociadas directamente con la disponibilidad de asimilados por grano, sino más bien a efectos directos del golpe de calor los cuales nunca fueron documentados en maíz creciendo en condiciones de cultivo. Dichos efectos han sido mayormente reportados ante la incidencia de golpe de calor durante la fase *Lag* del crecimiento del grano (i.e., luego de la fecundación del ovario y equivalente al M_2 del presente estudio), y atribuidos a interrupciones en la formación de células endospermáticas y la biosíntesis de amiloplastos (Jones et al., 1985; Denyer et al., 1994; Singletary et al., 1994; Commuri y Jones, 1999; Engelen-Eigles et al., 2001). Los efectos negativos del estrés previo a antesis (i.e., previo a la fecundación del ovario y equivalente al M_1 del presente estudio) han sido menos evaluados en cereales (Calderini et al., 1999b; Vara Prasad et al., 2008), y hasta el momento no existen estudios al respecto en maíz. Los procesos fisiológicos que subyacen a la limitación por destino impuesta por el golpe de calor son poco claros, pero evidencias en trigo (Millet y Pinthus, 1984; Calderini et al., 1999a), cebada (Scott et al., 1983) y sorgo (Yang et al., 2009) sugieren que temperaturas supraóptimas previas a floración podrían causar limitaciones físicas al crecimiento de grano debido a sus efectos negativos sobre el crecimiento del ovario y estructuras florales que recubren a dicho órgano (i.e., lemma y palea).

El golpe de calor provocó una variación importante en la F/D_{LEG} que permitió explicar los cambios observados en el peso de grano de las parcelas afectadas por este tratamiento (figura 6.2b). La incidencia del estrés durante M_3 redujo la F/D_{LEG} provocando las caídas esperadas de peso de grano (Borrás y Otegui, 2001). Sin embargo, la respuesta observada difirió en algunos aspectos de la usualmente reportada en maíz. En este sentido, todo el conjunto de datos no estuvo bien representado por un único modelo bilineal con *plateau* (op. cit). En parte porque los datos provenientes de parcelas control no abarcaron un rango amplio de F/D_{LEG} ni de peso de grano, pero también porque los valores de peso registrados en dichas parcelas tendieron a ubicarse por encima del modelo bilineal con *plateau* ajustado a las parcelas de estrés. Esta tendencia se verificó aun cuando las parcelas de estrés tuvieron mucha mayor F/D_{LEG} en los casos de golpe de calor aplicado en M_1 y M_2 , sugiriendo efectos irreversibles del tratamiento sobre la determinación del peso de grano potencial. Las particularidades del efecto del golpe de calor sobre la determinación del peso de grano también se pusieron en evidencia cuando el análisis se basó en cambios relativos de este rasgo y de la relación F/D para todo el llenado del grano, siguiendo la aproximación utilizada por Borrás et al. (2004) en un re-análisis cuantitativo de una extensa base de datos bibliográfica (figura 6.5). Cuando los resultados de esta tesis se incorporaron a ese análisis se pudo observar que los hallazgos originales se mantuvieron para los casos de disminución de la F/D durante el llenado (M_3) pero no para los incrementos de la misma (M_1 y M_2). Para los primeros, todos los casos evidenciaron variaciones negativas respecto al control (i.e., línea horizontal punteada) y se ajustaron a la respuesta media del peso de grano calculada por Borrás et al. (2004). Mientras que para los segundos, la mayoría de los

datos se encontraron por debajo de la respuesta mínima estimada por dicho autor (línea horizontal min.10% de la figura 6.5). Esta respuesta del peso de grano a golpes de calor alrededor de floración constituye una evidencia adicional del efecto permanente e independiente de la fuente de asimilados que provoca el estrés sobre el peso de grano potencial, la cual no puede ser compensada por las mejoras en la disponibilidad de asimilados por grano durante el llenado del mismo.

Figura 6.5. Relación entre cambios en el peso de grano y cambios en la disponibilidad de asimilados durante el período de llenado (expresados en términos relativos al control) de tres híbridos de maíz de fondo genético templado (círculos), templado \times tropical (triángulos) y tropical (cuadrado) sometidos a golpe de calor durante tres momentos del ciclo del cultivo (M_1 : 1, M_2 : 2; M_3 : 3) y durante dos años experimentales. Las líneas de puntos representan limitaciones teóricas impuestas de manera absoluta por fuente (línea 1:1) o destino (línea horizontal) de asimilados durante el llenado de granos. Las líneas llenas indican la respuesta máxima, mínima y media del peso de grano ante cambios en la disponibilidad de asimilados durante el período de llenado según las estimaciones realizadas por Borrás et al. (2004).



Acorde a lo esperado, las caídas en la F/D_{LEG} debido a los calentamientos durante M_3 redujeron el peso de grano a través de acortamientos del llenado efectivo de granos (Egharevba et al., 1976; Jones y Simmons, 1983), mientras que los aumentos en la F/D_{LEG} producto del golpe de calor alrededor de floración no provocaron incrementos en la duración del llenado (Schoper et al., 1982; Andrade y Ferreiro, 1996). La variación observada en la duración del llenado efectivo de granos estuvo relacionada con diferentes tasas de pérdida de agua del grano luego de alcanzado el máximo contenido de agua del grano, la cual fue máxima para el híbrido Te calentado durante M_3 . Este hecho, sumado al efecto nulo del estrés sobre la T_{LEG} , determinaron una mayor tasa de desecación del grano e incrementos en la concentración de humedad del grano a madurez fisiológica, coincidiendo con evidencias previas en maíz (Westgate, 1994; Sala et al., 2007a; Sala et al., 2007b) y otros cultivos (Barlow et al., 1980; Brooks et al., 1982; Gooding et al., 2003). Adicionalmente, el golpe de calor durante M_3 redujo el máximo volumen de grano debido a la combinación de dos hechos determinantes. Primero, el máximo volumen de grano de los controles se alcanzó en etapas próximas a la madurez fisiológica

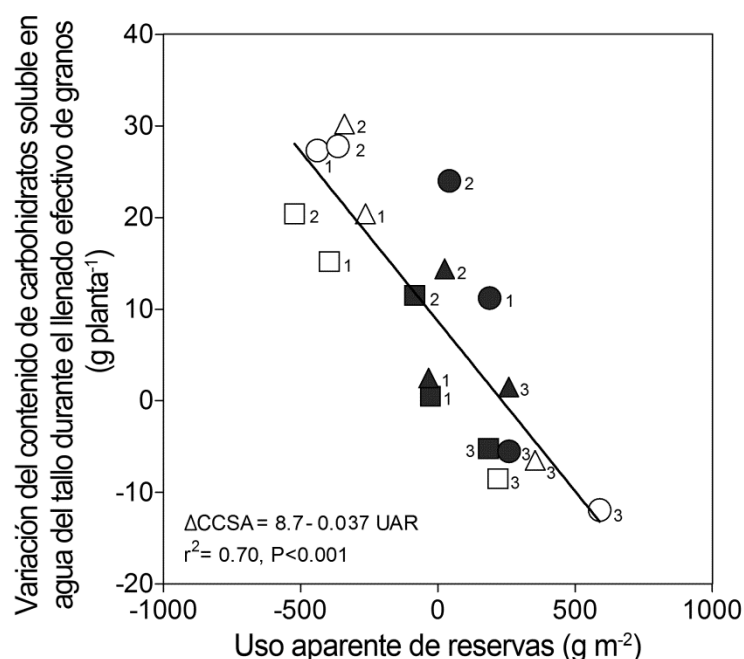
(Gambín et al., 2007b) y no en el momento de máximo contenido de agua del grano (Saini y Westgate, 2000), por lo que en aquellos casos en que tuvo lugar un acortamiento pronunciado en la duración del llenado también se afectó el volumen de grano. Segundo, y previamente indicado, se produjeron incrementos en la tasa de pérdida de agua del grano luego de alcanzado el máximo contenido de agua del grano. Por su parte, las pequeñas caídas de peso de grano producto de golpes de calor durante el período crítico no pudieron asociarse a variaciones en el máximo contenido de agua del grano (Borrás y Westgate, 2006) o la T_{LEG} (Borrás y Otegui, 2001) debido a que no se registraron diferencias significativas en la dinámica de agua y acumulación de biomasa del grano en estos casos (cuadro 6.1).

La dinámica del CCSA del tallo evaluada durante el segundo año experimental aportó evidencias que fortalecen la asociación previamente establecida entre la disponibilidad de asimilados por grano durante el llenado y el crecimiento del mismo. Los cambios observados en dicha dinámica debido las temperaturas supraóptimas estuvieron asociados a variaciones en la F/D_{LEG} . Por un lado, la reducción en la F/D_{LEG} debida al golpe de calor durante M_3 promovió una mayor removilización de reservas, tal como fuera evidenciado mediante tratamientos que reducen la disponibilidad de asimilados por grano durante el llenado como defoliaciones (Sayre et al., 1931; Jones y Simmons, 1983), sombreos (Uhart y Andrade, 1995a; Andrade y Ferreiro, 1996) y déficit hídrico (Westgate y Boyer, 1985; Ouattar et al., 1987b). Por su parte, el incremento en la F/D_{LEG} debido al golpe de calor durante el período crítico determinó una mayor deposición de asimilados en el tallo, siendo esta respuesta similar a la observada en experimentos manipulativos que incrementan la disponibilidad de asimilados por grano durante el llenado a través de restricciones a la polinización (Sayre et al., 1931; Hume y Campbell, 1972), desgranado (Jones y Simmons, 1983), sombreos durante el período crítico (Uhart y Andrade, 1995a), raleo de plantas después del período crítico (Andrade y Ferreiro, 1996) y remoción de espiga (van Reen y Singleton, 1952; Christensen et al., 1981). Estos cambios en el uso de reserva habían sido descritos previamente en el Capítulo 3 a partir del UAR (figura 3.5). La relación estrecha existente entre el UAR y la variación en el CCSA del tallo durante el llenado efectivo de granos (figura 6.6) destaca su utilidad como un estimador simple del uso de reservas en maíz. Adicionalmente, el estudio de la dinámica de CCSA permitió evaluar si la mayor sensibilidad del híbrido Te al golpe de calor durante M_3 (Capítulo 3) estuvo asociada a una menor disponibilidad de asimilados en tallo, tal como fuera descrito para cultivares de trigo (Blum et al., 1994; Yang et al., 2002; Tahir y Nakata, 2005). En esta tesis, los híbridos analizados presentaron patrones de evolución del CCSA similares dentro de cada fecha de siembra de la condición control, por lo que la disponibilidad de asimilados de reservas previo a la incidencia del estrés fue similar entre materiales (figura 6.3). Consecuentemente, las mayores caídas del peso de grano registradas en el híbrido Te no estarían asociadas a una menor capacidad de sostener el llenado de granos a expensas de reservas, sino a una mayor sensibilidad de su aparato fotosintético al golpe de calor (Capítulo 3) que determinó un mayor desbalance entre la oferta y demanda de asimilados durante el llenado efectivo de granos (i.e., F/D_{LEG} ; figura 6.2). Estos resultados no concuerdan con la predicción establecida a partir de la Hipótesis 5, por lo que esta última es rechazada.

El CCSA del tallo a madurez fisiológica pudo ser explicado por la F/D_{LEG} (figura 6.4) mediante un modelo bilineal con *plateau*. Por un lado, este modelo permitió evidenciar la elevada contribución de las reservas del tallo al llenado de granos en condiciones de baja F/D_{LEG} (golpe de calor durante M_3), aunque dicho aporte no fue suficiente para evitar las caídas de peso de grano de algunos genotipos.

Este resultado desestima la interpretación de que el cultivo de maíz hace un pobre aprovechamiento de reservas para el llenado del grano (Borrás et al., 2004). Por el contrario, destaca que la participación de las reservas para tal fin es ya parte de la fuente requerida para la formación del grano en la mayoría de las condiciones normales de producción (i.e., parcelas control), motivo por el cual cualquier restricción adicional a la fuente de asimilados provenientes de la fotosíntesis durante el llenado del grano no puede ser completamente compensada a través de la removilización de reservas. Por otra parte, el modelo establecido en la figura 6.4 fue capaz de describir la respuesta opuesta observada en plantas calentadas durante el PC, las cuales alcanzaron la máxima capacidad de almacenaje de carbohidratos solubles en agua del tallo con valores de F/D_{LEG} por encima del umbral de $431 \text{ mg grano}^{-1}$. Dichas plantas registraron valores de CCSA tan elevados y variables como aquellos registrados por plantas estériles, aportando mayores evidencias para suponer que dichas plantas alcanzaron la máxima capacidad de reserva de asimilados en el tallo.

Figura 6.6. Relación entre la variación en el contenido de carbohidratos solubles en agua del tallo durante el llenado efectivo de granos (ΔCCSA) y el uso aparente de reservas (UAR) en el experimento 2. Símbolos como en la figura 6.2. La ecuación y la línea llena representan el modelo ajustado a todo el conjunto de datos.



6.5. Conclusiones

El golpe de calor incidió negativamente sobre el peso de grano final en todos los momentos de calentamiento evaluados. Golpes de calor alrededor de floración incrementaron la disponibilidad de asimilados por grano durante el PC y el LEG, sin embargo se observaron caídas en el peso de grano que fueron atribuidas a efectos directos del golpe de calor sobre la determinación del peso de grano potencial. Golpes de calor durante la primer mitad del llenado efectivo de granos redujeron la disponibilidad de asimilados por grano durante el dicha etapa, determinado interrupciones en el llenado de granos. Esta respuesta fue acompañada de un mayor uso de reservas de asimilados en el tallo e incrementos en la tasa de pérdida de agua

del grano, por lo que se encontraron fuertes asociaciones entre (i) el uso de reservas en tallo y la F/D_{LEG} , y (ii) la tasa de pérdida de agua del grano y la duración del llenado efectivo de granos. Se observaron diferencias genotípicas en la respuesta al estrés que identificaron al híbrido templado como el material de mayor sensibilidad a la incidencia de golpes de calor durante el llenado de granos.

Consideraciones finales

7.1. Introducción

Al momento de iniciar esta tesis se contaba con abundante información del efecto del golpe de calor en maíz, pero de difícil extrapolación a condiciones de campo dado que la mayor parte de los estudios se basaron en técnicas de cultivos de órganos *in vitro* (Herrero y Johnson, 1980; Jones et al., 1984; Mitchell y Petolino, 1988; Dupuis y Dumas, 1990; Cheikh y Jones, 1994; Singletary et al., 1994; Commuri y Jones, 1999; Commuri y Jones, 2001), plantas aisladas en macetas (Badu-Apraku et al., 1983; Schoper et al., 1986; Schoper et al., 1987; Wilhelm et al., 1999), o calentamientos localizados sobre la espiga (Commuri y Jones, 2001). Muchas de las investigaciones realizadas a nivel de cultivo (Muchow, 1990; Lafitte y Edmeades, 1997; Rincón-Tuexi et al., 2006) no permiten una adecuada valoración del impacto del golpe de calor sobre las plantas debido a que las diferencias de temperatura entre tratamientos con distintos regímenes térmico (i.e., presencia/ausencia de eventos con temperaturas supraóptimas) son logradas mediante el uso de fechas de siembra y/o ambientes contrastantes. Esto determina la inexistencia de un tratamiento control apropiado para establecer comparaciones entre regímenes térmicos debido a que dichas manipulaciones pueden determinar cambios en el ambiente hídrico (déficit de presión de vapor) y radiativo (Idso et al., 1981; Cirilo y Andrade, 1994a; Maddonni, 2012). Parte de esta limitación puede ser resuelta mediante el empleo de invernáculos pequeños colocados a campo durante el período de calentamiento. Los trabajos de Cicchino et al. (2010a; 2010b) fueron los primeros en implementar esta metodología para evaluar el efecto del golpe de calor sobre el desarrollo fenológico y los determinantes fisiológicos (radiación interceptada, eficiencia en el uso de la radiación, índice de cosecha) y numéricos (número de granos por planta, peso de granos) del rendimiento de un híbrido de maíz de origen templado. A pesar de la valiosa información aportada por dichos estudios, sus resultados tienen un alcance limitado dado que (i) sólo incluyeron un genotipo de maíz, (ii) contemplaron las etapas pre y postfloración del período crítico para la fijación de granos, sin considerar etapas posteriores donde se define el peso de grano, y (iii) la intensidad del estrés difirió notablemente entre los momentos de calentamiento. Estas restricciones no permiten identificar la importancia relativa de cada subperíodo sobre el rendimiento en grano o la existencia de diferencias genotípicas en la respuesta al golpe de calor, dejando algunos interrogantes como: ¿Cuál es el efecto de breves episodios de golpe de calor sobre los determinantes fisiológicos y numéricos del rendimiento cuando el estrés ocurre en distintas etapas del cultivo y éstas experimentan las mismas condiciones de crecimiento? ¿Existen diferencias genotípicas en las respuestas al golpe de calor? ¿Cuáles son los atributos que explican dichas diferencias?. Para responder a estas preguntas se realizaron dos experimentos a campo donde se evaluó la respuesta de tres genotipos de maíz con fondo genético contrastante (templado, tropical y templado \times tropical) a un golpe de calor de quince días de duración aplicado durante tres momentos distintos del ciclo de cultivo (V_{15} - R_1 , R_1 - R_2 , R_2 - R_2+15d). El golpe de calor fue generado mediante mini-invernáculos colocados a campo durante el período de estrés y un sistema de calentamiento con controlador de temperaturas (figura 2.1). Adicionalmente, se realizaron distintas fechas de siembra para cada combinación de momento de calentamiento \times híbrido con el fin de hacer coincidir la fecha de inicio de todos los momentos de calentamiento (figura 2.1c). Esta metodología permitió homogeneizar la intensidad del estrés entre las distintas combinaciones de tratamientos de golpe de calor (i.e., temperatura

acumulada de estrés; cuadro 3.2), superando las mencionadas restricciones metodológicas de los estudios de Cicchino et al. (op. cit).

En esta tesis también se evaluó el patrón de respuesta del número de granos a las tasa de crecimiento de planta y espiga durante el período crítico. El análisis de la relación existente entre dichas variables ha sido utilizado para comprender las causas de pérdida de granos debido a la incidencia de distintos estreses abióticos (Andrade et al., 2002; D'Andrea et al., 2008; Rossini et al., 2011), incluido el estrés por golpe de calor (Cicchino et al., 2010b). En conjunto, la evidencia disponible indica que el efecto de los estreses abióticos sobre el número de granos se asocia principalmente a caídas en la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (op. cit.), y que deficiencias hídricas y nitrogenadas severas también pueden afectar el número de granos a través de reducciones en la partición de biomasa a espiga (Uhart y Andrade, 1995b; D'Andrea et al., 2008). Sin embargo, ninguno de estos estudios contempla las pérdidas de granos asociada a fallas en eventos reproductivos (e.g. polinización, fecundación y aborto de granos) cuya importancia ha sido ampliamente demostrada en condiciones de estrés por golpes de calor (Herrero y Johnson, 1980; Schoper et al., 1986; Schoper et al., 1987; Dupuis y Dumas, 1990). Esto genera dudas respecto a cuáles son las principales causas de reducción del número de granos debidas a la incidencia de temperaturas supraóptimas alrededor de floración y cuál de estas causas se asocia a la existencia de diferencias genotípicas en la fijación de granos. Estos interrogantes no pueden ser respondidos mediante el análisis clásico de la relación entre el número de granos y la tasa de crecimiento de la planta (Tollenaar et al., 1992; Andrade et al., 1999; Andrade et al., 2002), por lo que en esta tesis se propuso una aproximación metodológica nueva (Capítulo 4) que permitió identificar las tres fuentes de variación del número de granos mencionadas previamente [i.e., aquellas asociadas a (i) cambios en la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico, (ii) cambios en la partición de biomasa a espiga, y (iii) fallas en eventos reproductivos (figura 4.1)].

Las fallas en los eventos reproductivos debido a golpes de calor alrededor de floración han sido atribuidas a problemas de polinización asociados a la falta de polen viable (Lonnquist y Jugenheimer, 1943; Barnabás et al., 2008). Esto explicaría la existencia de un mayor número de estudios referidos al efecto del golpe de calor sobre las estructuras reproductivas masculinas respecto a las femeninas (Herrero y Johnson, 1980; Schoper et al., 1986; Schoper et al., 1987; Dupuis y Dumas, 1990). No obstante, Cicchino et al. (2010b) demostraron que la incidencia de golpes de calor alrededor de floración provoca mermas importantes del número de granos a pesar de la incorporación de polen fresco. Dichas mermas podrían deberse a efectos deletéreos del estrés sobre el desarrollo de flores, restricciones en la profusión de estigmas por fuera de las chalas, reducciones en la receptividad de los estigmas emergidos, problemas en el desarrollo del tubo polínico y/o fallas en el cuaje de granos (figura 1.1). El estudio de rasgos asociados al desarrollo y crecimiento de estructuras reproductivas femeninas ha recibido una mayor atención en condiciones potenciales de crecimiento (Otegui y Andrade, 2000; Westgate et al., 2004), o en algunas condiciones limitantes como deficiencias hídricas (Basseti y Westgate, 1993c) o nitrogenadas (Edmeades et al., 1993), pero nunca en situaciones de estrés por golpe de calor. Por tal motivo, se evaluó el efecto del golpe de calor sobre algunos determinantes numéricos del número de granos (Capítulo 5), permitiendo identificar tres fuentes de pérdidas de granos asociadas a (i) el número de flores desarrolladas (Pérdida 1), (ii) la proporción de flores desarrolladas que exponen sus estigmas por fuera de las chalas (Pérdida 2), y (iii) el aborto de ovarios fecundados (Pérdida 3).

Otro aspecto abordado en esta tesis estuvo relacionado con la respuesta del peso de grano a la incidencia de golpes de calor en distintas etapas de crecimiento del cultivo. El peso de grano final está determinado por la capacidad de acumulación de biomasa del grano establecida durante la etapa inicial de su crecimiento (i.e., fase *Lag*) y la deposición de asimilados en la etapa posterior (i.e., fase de llenado efectivo). La dinámica de estos procesos depende de la disponibilidad de asimilados por grano durante dichas etapas. Condiciones de crecimiento que provoquen aumentos en la disponibilidad de asimilados por grano alrededor de floración provocan incrementos en el tamaño potencial del grano (Capitanio et al., 1983; Reddy y Daynard, 1983; Jones et al., 1996) y, en caso de no presentarse limitaciones al crecimiento del grano durante el llenado efectivo del mismo, esto se corresponderá con un mayor peso de grano a madurez fisiológica (Gambín et al., 2006). La respuesta del peso de grano a cambios en la disponibilidad de asimilados durante el período de llenado ha sido evaluada en una gran cantidad de experimentos (Tollenaar y Daynard, 1978a; Tollenaar y Daynard, 1978b; Jones y Simmons, 1983; Afuakwa et al., 1984; Uhart y Andrade, 1995a; Andrade y Ferreiro, 1996; Cirilo y Andrade, 1996; Borrás y Otegui, 2001) y re-analizada por Borrás et al. (2004) siguiendo una metodología propuesta por Slafer y Savin (1994). En dicho re-análisis los autores sugieren que los granos de maíz crecen con una disponibilidad de asimilados cercana a la requerida para alcanzar el tamaño potencial y que la respuesta del peso de grano frente a incrementos en la disponibilidad de asimilados (aumento pequeño del peso de grano) contrasta fuertemente con la respuesta que ocurre frente a reducciones en la cantidad de asimilados disponibles durante el llenado (caídas drástica del peso de grano). Esto pone de manifiesto la elevada sensibilidad del peso de grano de maíz a la incidencia de condiciones adversas que reducen la disponibilidad de asimilados por grano durante el llenado de granos.

El efecto de temperaturas supraóptimas sobre el crecimiento del grano de maíz ha sido estudiado en condiciones de crecimiento controladas (Badu-Apraku et al., 1983; Jones et al., 1984; Cheikh y Jones, 1994; Singletary et al., 1994; Commuri y Jones, 1999; Wilhelm et al., 1999; Commuri y Jones, 2001), contribuyendo sustancialmente al entendimiento de los efectos del golpe de calor sobre los procesos metabólicos involucrados en las caídas del peso de grano. Sin embargo, esta información no puede extrapolarse a situaciones de estrés que ocurren a campo dado que no contemplan los efectos del estrés sobre la disponibilidad de asimilados por grano en distintas etapas de crecimiento y las relaciones hídricas del grano. Por tal motivo, en esta tesis se estudió el impacto del golpe de calor sobre el peso de granos (Capítulo 6), estableciendo relaciones entre la dinámica del contenido de agua del grano y la disponibilidad de asimilados durante el período crítico y el llenado efectivo de granos.

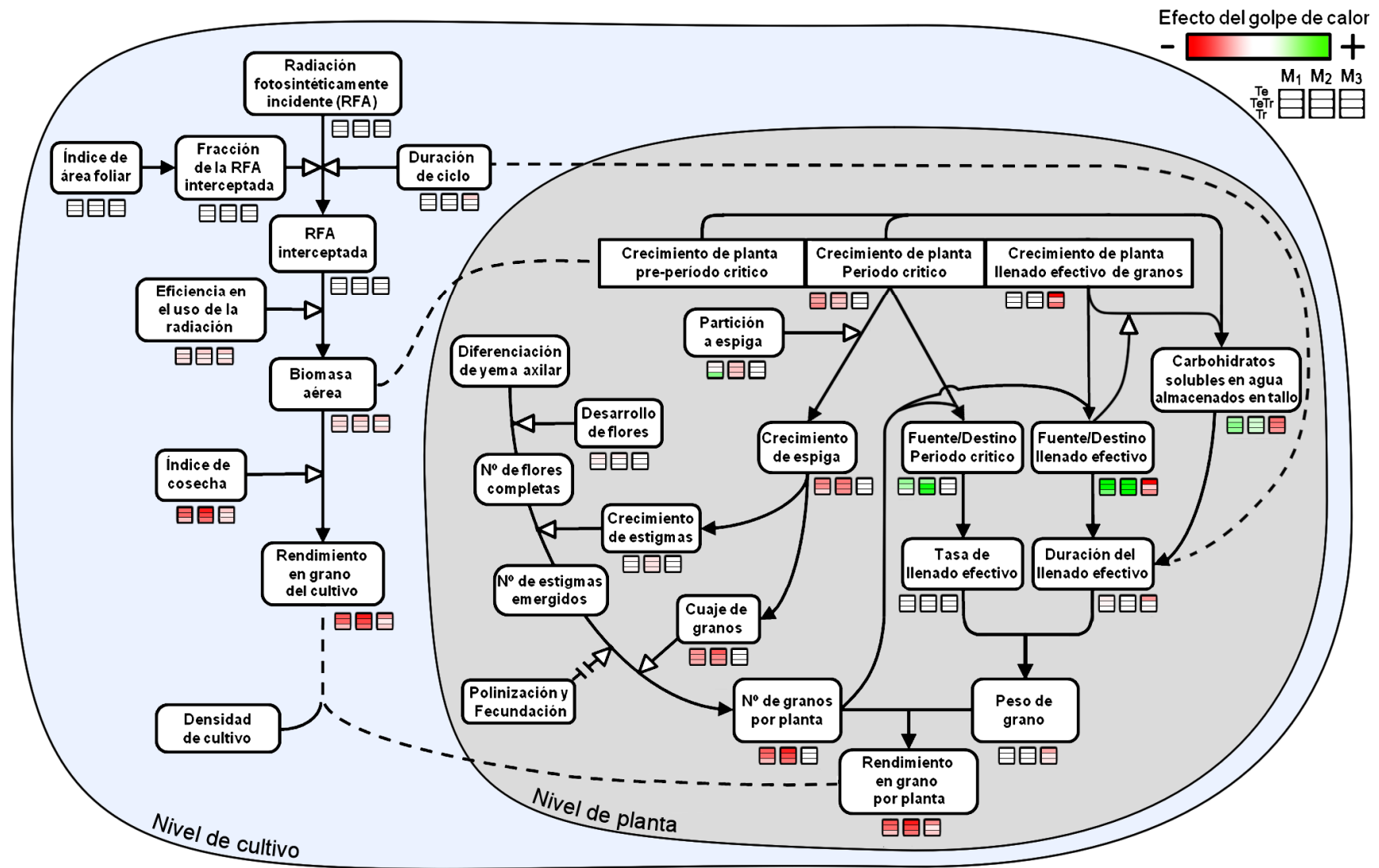
7.2. Aportes originales al conocimiento científico

A partir de los resultados descritos en los diferentes capítulos que componen el cuerpo de la tesis, resumidos en la figura 7.1, se logró mejorar el conocimiento de los determinantes fisiológicos y numéricos del rendimiento en grano de maíz ante la incidencia de golpes de calor en distintas etapas del cultivo. En un estudio previo, Cicchino et al. (2010b) habían indicado que el golpe de calor influye sobre la producción de biomasa principalmente a través de alteraciones en los procesos relacionados con la fijación de carbono (i.e., caídas en la EUR), y no a través de reducciones en la captura de radiación debido a una menor expansión foliar. Los resultados de esta tesis coinciden con la evidencia previa (cuadro 3.3 y 3.4;

figuras 3.3 y 7.1), aunque demuestran la posibilidad de producirse reducciones en la captura de radiación a través de acortamientos en el ciclo del cultivo (cuadro 3.1 y figura 7.1). A su vez, en este trabajo se describieron algunos atributos asociados a la interrupción del llenado de grano debida al golpe de calor (i.e., muerte repentina de plantas), los cuales difieren considerablemente de aquellos usualmente descritos en condiciones de deficiencias hídrico-nutricionales (senescencia progresiva de hojas durante el llenado de granos, bajo índice de área foliar a madurez fisiológica; Boyer, 1970; Uhart y Andrade, 1995b; Sadras y Milroy, 1996; Lemaire y Gastal, 2009). Esta información resulta valiosa para mejorar la interpretación de síntomas de daños provocados por golpes de calor, especialmente en ambientes donde la ocurrencia de episodios breves de temperaturas supraóptimas suele asociarse a eventos de sequía.

Los resultados de la presente tesis ponen nuevamente de manifiesto que el período de tiempo alrededor de floración es la etapa del cultivo con mayor sensibilidad a la ocurrencia de estreses abióticos (Fischer y Palmer, 1984; Hall et al., 1984; Kiniry y Ritchie, 1985; Grant et al., 1989). No obstante, esta tesis agrega información valiosa acerca de (i) la existencia de diferencias genotípicas en la tolerancia al golpe de calor, y (ii) las mermas relativas de rendimiento debida a golpes de calor, conocidas desde hace mucho tiempo para otros estreses (op. cit.). El primer aspecto distingue al híbrido templado como el genotipo más sensible a los golpes de calor. El segundo aspecto identifica a la segunda mitad del período crítico para la fijación de granos como la etapa donde se produjeron las mayores caídas de rendimiento en grano debidas dicho estrés, las cuales estuvieron principalmente asociadas a reducciones en el índice de cosecha, y en menor medida a reducciones en la producción de biomasa (figuras 3.4 y 7.1). **Estos resultados concordaron con las predicciones 1 y 2, determinado que las Hipótesis respectivas no fueran rechazadas.**

Figura 7.1. Diagrama conceptual describiendo la conexión entre determinantes fisiológicos y numéricos del rendimiento en grano de maíz. Las flechas llenas representan relaciones entre variables y las vacías indican variables o procesos que regulan dichas relaciones. Los símbolos coloreados debajo de las cajas indican el efecto del golpe de calor (variación respecto al tratamiento control, promediando experimentos) sobre distintas etapas del ciclo del cultivo (M_1 : durante los quince días previos a antesis; M_2 : durante quince días a partir de inicio de *silking*; M_3 : durante quince días a partir del inicio del llenado activo de granos) y genotipos de maíz de fondo genético contrastante (Te: templado; Tr: tropical; TeTr: Te \times Tr).



El desarrollo de la nueva aproximación metodológica para el estudio de las pérdidas de grano permitió identificar a la caída en la tasa de crecimiento de la planta como la principal fuente de reducción del número de granos ante la incidencia de golpes de calor alrededor de floración, seguida por aquellas mediadas por restricciones no asociadas a la asignación de asimilados hacia la espiga y por cambios en la partición de biomasa a espiga (cuadro 4.3; figura 7.1). La pérdida de granos debida a efectos directos del estrés fue la principal responsable de la mayor sensibilidad al golpe de calor del híbrido templado respecto al híbrido tropical. **Esta evidencia concuerda con la predicción enunciada a partir de la Hipótesis 3 y destaca la importancia de la nueva aproximación como una herramienta para mejorar la eficiencia de selección de genotipos en los programas de mejoramiento genético de maíz.** El golpe de calor provocó variaciones leves en la partición de biomasa a espiga durante el período crítico (figuras 4.2 y 7.1) y consecuentemente en la pérdida de granos asociada a dicha variable (i.e., ΔNGP_2 ; cuadro 4.3). Esta respuesta ya había sido documentada en plantas de maíz sometidas a un golpe de calor alrededor de floración (Cicchino et al., 2010b). Sin embargo, dicho estudio no brindó una estimación de las variaciones en el número de granos debido a cambios en la partición de biomasa a espiga (cuadro 4.3) ni identificó un valor crítico de partición de biomasa a espiga para evitar pérdidas de granos (figura 4.4), como sí fueron definidos en esta tesis. La cuantificación de estos atributos es muy valiosa para mejorar el entendimiento de la determinación del número de granos en condiciones de estrés, especialmente en situaciones de deficiencias hídricas (Hall et al., 1981; NeSmith y Ritchie, 1992a) y nitrogenadas (Uhart y Andrade, 1995b; D'Andrea et al., 2008) severas donde se producen caídas importantes en la partición de biomasa a espiga.

El estudio de las pérdidas de granos a nivel de espiga (i.e., determinantes numéricos del número de grano; Capítulo 5) permitió ampliar la información obtenida a nivel de planta (indicada previamente) y poner a prueba la Hipótesis 4. Los resultados de dicho estudio indicaron que la menor fijación de granos en espigas calentadas alrededor de floración se debió principalmente a un mayor aborto de granos (figuras 5.2 y 7.1) coincidiendo con evidencias previas en sequía (Westgate y Boyer, 1986a; Otegui et al., 1995a) y estrés nitrogenado (Jacobs y Pearson, 1991). No obstante, cabe destacar que los efectos negativos del golpe de calor sobre la viabilidad del polen (Herrero y Johnson, 1980; Schoper et al., 1986; Schoper et al., 1987) y la sincronía floral (Capítulo 5; Cicchino et al., 2010b) no fueron un factor limitante para la fijación de granos debido a la aplicación diaria de polen fresco. El desarrollo de flores y la dinámica de emisión de estigmas fueron menos afectados por las temperaturas supraóptimas que el cuaje de grano (figuras 5.2 y 7.1), siendo la magnitud de la respuesta variable entre momentos de calentamientos, híbridos y categorías extremas de plantas dentro del *stand* (i.e., plantas con *silking* temprano y tardío). El golpe de calor redujo el número de flores desarrolladas cuando el estrés se produjo en la etapa *presilking* y sobre los híbridos de origen templado y templado \times tropical (cuadro 5.3). Por su parte, la dinámica de emisión de estigmas fue afectada por calentamientos en ambas subetapas del período crítico (i.e., *presilking* y *postsilking*) independientemente del genotipo analizado, pero esta respuesta sólo fue evidente en individuos que presentaron *silking* tardío (figura 5.1). Este hecho, en forma conjunta con las relaciones establecidas en la figura 5.3, permite suponer la predominancia de efectos indirectos (i.e., mediados por el suministro de asimilados a espiga) del golpe de calor sobre la exposición de estigmas, en lugar de efectos directos (i.e., caídas en la turgencia y desecación de estigmas) del estrés. **Todos estos**

resultados permitieron aceptar parcialmente la Hipótesis 4, debido al cumplimiento parcial de sus predicciones.

La determinación del peso de grano en maíz sometido a golpes de calor en condiciones de campo no había sido estudiada hasta la realización de esta tesis. Los resultados de este trabajo demuestran que la respuesta del peso de grano a la incidencia de dicho estrés alrededor de floración no se ajusta al marco conceptual propuesto por Gambín et al. (2006) (figura 6.2a) y sólo lo hace parcialmente al propuesto por Borrás et al. (2004) (figura 6.5). En esta tesis, se evidenció que a pesar del incremento en la disponibilidad de asimilados por grano en el período crítico y/o el llenado de efectivo de granos debido a la incidencia de temperaturas supraóptimas alrededor de floración (e.g. elevada relación fuente-destino durante todo el llenado del grano en las parcelas calentadas en *presilking*) se produjeron caídas en el peso de grano alcanzado respecto a las parcelas control. Esta respuesta atípica sería atribuible a los efectos directos del golpe de calor sobre procesos metabólicos involucrados en la determinación del peso de grano potencial (Jones et al., 1985; Denyer et al., 1994; Singletary et al., 1994; Commuri y Jones, 1999; Engelen-Eigles et al., 2001), evidencia nunca antes reportada en condiciones de cultivo e incluso desestimada para maíz en función de estudios basados en combinación de tratamientos de densidad de plantas \times control de la polinización (Borrás y Otegui, 2001).

El estudio de las dinámicas de agua en el grano y de reservas de carbohidratos en el tallo confirmó la existencia de una estrecha relación entre dichos procesos y la acumulación de biomasa en el grano (Jones y Simmons, 1983; Schnyder y Baum, 1992). En la presente tesis se observó que caídas aún pequeñas del peso de grano debidas a golpes de calor, que no pudieron ser detectadas mediante el análisis del contenido hídrico del grano alrededor de floración, tuvieron su correlato en variaciones leves del contenido de carbohidratos solubles en agua del tallo (figura 6.3). Contrariamente, el efecto severo del golpe de calor durante la primera mitad del llenado efectivo determinó las mayores caídas del peso de grano, las cuales fueron acompañadas por un mayor uso de reservas del tallo y aumentos en la tasa de pérdida de agua del grano (figuras 6.1 y 6.3). Las mayores caídas de peso de grano registradas en el híbrido Te no estuvieron asociadas a una menor capacidad de sostener el llenado de granos a expensas de reservas (figura 6.3), sino a una mayor sensibilidad de su aparato fotosintético al golpe de calor (Capítulo 3) que determinó un mayor desbalance entre la oferta y demanda de asimilados durante el llenado efectivo de granos (figura 6.4). **Estos resultados no concuerdan con la predicción establecida a partir de la Hipótesis 5, por lo que esta última es rechazada.** Finalmente, un hallazgo relevante de este trabajo fue la asociación establecida entre la variación del contenido de carbohidratos solubles en agua del tallo durante el llenado efectivo y el uso aparente de reservas (figura 6.6), la cual demuestra la utilidad de este último como estimador simple del uso de reservas en el tallo.

7.3. Implicancias para investigaciones futuras

No obstante los avances logrados en el entendimiento de la respuesta del cultivo de maíz a la incidencia de golpes de calor, numerosos aspectos de interés no han sido totalmente dilucidados y al mismo tiempo surgen nuevos interrogantes a resolver en investigaciones futuras. Algunos de estos aspectos se plantean a continuación.

7.3.1. Evaluar la respuesta del cultivo de maíz frente a la incidencia de golpes de calor de distintas intensidad, duración y tasa de incremento térmico.

Tal como fuera descrito en la sección 1.1, los efectos deletéreos del golpe de calor sobre un determinado proceso fisiológico dependen de características del estrés (tasa de incremento térmico, intensidad y duración del golpe de calor) y del cultivo (grado de aclimatación al estrés debido a exposiciones previas a elevadas temperaturas, sensibilidad de los distintos estadios ontogénicos a las temperaturas supraóptimas y nivel de termotolerancia del genotipo). En maíz, la respuesta a golpes de calor de distintas características ha sido estudiada a nivel de órganos (Herrero y Johnson, 1980; Jones et al., 1984; Mitchell y Petolino, 1988; Dupuis y Dumas, 1990; Cheikh y Jones, 1994; Singletary et al., 1994; Commuri y Jones, 1999; Commuri y Jones, 2001), o de planta individual (Badu-Apraku et al., 1983; Schoper et al., 1986; Schoper et al., 1987; Wilhelm et al., 1999) creciendo en cámaras de crecimiento. Si bien esta metodología otorga ventajas en la manipulación del estrés, presenta limitaciones para reproducir las condiciones de crecimiento de un cultivo. En este sentido, el presente trabajo contribuye sustancialmente a mejorar el entendimiento del efecto de golpes de calor que ocurren a campo. No obstante, en esta tesis sólo ha sido evaluada la sensibilidad al estrés en algunos estadios ontogénicos del cultivo y el nivel de termotolerancia entre distintos genotipos de maíz. Esto deja muchos interrogantes sobre el comportamiento del cultivo ante distintas combinaciones de intensidad, duración y tasa de incremento térmico.

7.3.2. Bases genéticas de la tolerancia al golpe de calor

En general, la búsqueda de tolerancia a un estrés puede resultar de gran complejidad. Para el estrés térmico en particular, podría estar asociada a procesos fisiológicos que permiten a las plantas reducir la temperatura de sus órganos y/o termotolerar el estrés. El primero de estos mecanismos podría estar asociado a cualquier atributo del genotipo (i.e., acumulación de osmolitos, profundización de raíces) que permita mantener el flujo transpiratorio ante la incidencia del estrés (Hare et al., 1998; Ashrafa y Foolad, 2007), especialmente si tenemos en cuenta que en condiciones de campo la ocurrencia de golpes de calor suele estar acompañada de deficiencias hídricas (Mittler, 2006). Cuando un cultivo se encuentra transpirando, la temperatura del follaje es menor a la del aire y dependiente del déficit de presión de vapor (Idso et al., 1981; Idso, 1982). Caídas en la disponibilidad de agua en el suelo reducen el flujo transpiratorio, y consecuentemente provocan aumentos en la temperatura foliar. La temperatura foliar puede incluso superar a la del aire, siendo esta diferencia máxima cuando se produce el cierre estomático. Por ejemplo, si la temperatura del aire al mediodía alcanza registros de ca. 38 °C, el follaje del cultivo estresado podría encontrarse a ca. 43 °C (Cárcova et al., 1998).

Entre los mecanismos de termotolerancia más estudiados en plantas encontramos a la detoxificación de radicales oxidativos (Sairam y Saxena, 2000; Sairam et al., 2000; Inze y Van Montagu, 2001; Jiang y Zhang, 2001) y la síntesis de proteínas de golpe de calor (Cooper y Ho, 1983; Frova y Gorla, 1993; Feder y Hofmann, 1999; Maestri et al., 2002). El primero de estos mecanismos consiste en neutralizar los efectos deletéreos de radicales oxidativos (i.e., peróxido de hidrógeno, especies reactivas del oxígeno) producidos principalmente como consecuencia de la pérdida de funcionalidad de la cadena transportadora de electrones de cloroplastos y mitocondrias (Inze y Van Montagu, 2001; Foyer y Noctor, 2005). En condiciones de

estrés moderado, los radicales oxidativos pueden ser eficientemente neutralizados por el sistema de protección antioxidante (formado por enzimas antioxidantes y metabolitos no enzimáticos). Sin embargo, cuando la severidad del estrés y su duración aumentan considerablemente, la producción de radicales oxidativos excede a la capacidad de detoxificación del sistema de protección y se producen daños celulares (Mittler, 2002).

Las proteínas de golpe de calor (HSPs; del inglés heat shock proteins) están involucradas en la protección de estructuras celulares funcionales y en la reparación o desintegración de estructuras dañadas (Lindquist, 1986). Estas proteínas suelen ser clasificadas en familias según su masa molecular (Huang y Xu, 2008), la cual puede variar entre 10 a 200 KDa. Algunas HSPs son constitutivas, otras se ven rápidamente alteradas cuando la temperatura asciende, mientras que otras se comportan de manera ambivalente (Nieto-Sotelo et al., 2002). Su síntesis es dependiente del órgano y estado de desarrollo del mismo, otorgando distinta sensibilidad al golpe de calor (Cooper et al., 1984; Dupuis y Dumas, 1990; Hopf et al., 1992). En maíz, por ejemplo, el contenido de HSP101 es más abundante en tejidos en desarrollo de panoja, espiga, endosperma y embrión, menos abundante en regiones meristemáticas vegetativas y reproductivas, y sólo está presente en niveles bajos en el polen maduro, anteras y panojas en antesis, raíces y hojas (Young et al., 2001).

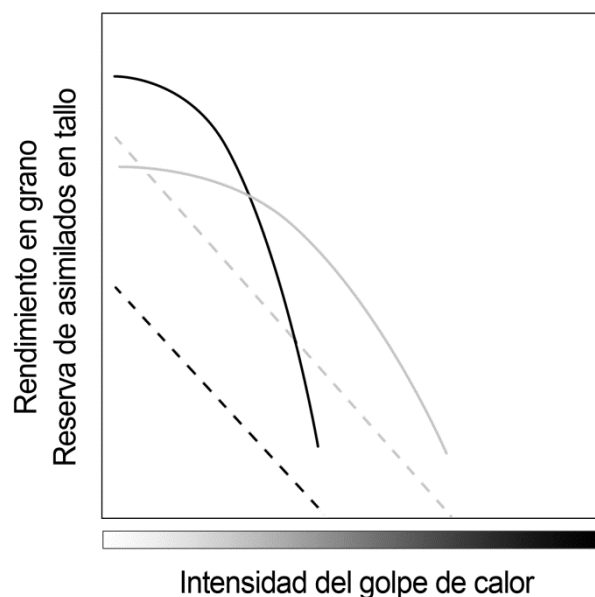
La diferencia genotípica en la respuesta al golpe de calor observada en esta tesis podría estar asociada a alguno de los mecanismos de termotolerancia mencionados anteriormente. La existencia de variabilidad genotípica en la expresión de estos rasgos ha sido ampliamente documentada en maíz (Ottaviano et al., 1991; Jorgensen et al., 1992; Frova y Gorla, 1993; Magnard et al., 1996). Desafortunadamente, toda esta información proviene de ensayos en condiciones controladas de crecimiento, situación que imposibilita evaluar en forma certera la compleja respuesta de plantas sometidas a golpe de calor en condiciones de cultivo.

7.3.3. El rol de los carbohidratos de reserva en la tolerancia al golpe de calor: Compromiso entre estabilidad y potencialidad de rendimiento.

Los resultados mostrados en esta tesis permiten afirmar que las reservas de asimilados en tallos contribuyen sustancialmente al llenado de granos en condiciones de golpe de calor, pudiendo ser considerado un atributo constitutivo de tolerancia al estrés. En trigo, las diferencias genotípicas observadas en la tolerancia a golpes de calor han sido asociadas a la removilización de reservas durante el llenado (Blum et al., 1994; Yang et al., 2002; Tahir y Nakata, 2005). Estas evidencias no pudieron ser confirmadas en esta tesis dado que los genotipos analizados no mostraron diferencias en el contenido de carbohidratos solubles en agua acumulados en el tallo (Capítulo 6). No obstante, algunos estudios en maíz demuestran la existencia de variabilidad genética para esta variable (Daynard et al., 1969; Widstrom et al., 1984). En este sentido, resultaría interesante evaluar la respuesta al golpe de calor durante el llenado de granos en genotipos de maíz con diferente capacidad de reservas de carbohidratos solubles en agua acumulados del tallo. Sería esperable que genotipos con mayor capacidad de reservas toleren mejor las caídas en la disponibilidad de asimilados durante el llenado debidas a golpes de calor, y consecuentemente, presenten una mayor estabilidad de rendimiento (figura 7.2). No obstante, cabe destacar que una mayor deposición de asimilados en tallo suele ser el resultado de una menor partición de biomasa a espiga (Sleewinski, 2012), la cual determina un menor rendimiento en grano (Cirilo y Andrade, 1994a; Vega et al., 2001). Esto denota

la existencia de un compromiso entre la estabilidad del rendimiento y la potencialidad del mismo. Los programas de mejoramiento genético podrían desarrollar genotipos con distintas combinaciones de estos atributos, y así permitir a los productores seleccionar genotipos en función de la severidad y probabilidad de ocurrencia de los eventos de golpes de calor en su ambiente productivo.

Figura 7.2. Rendimiento en grano (líneas llenas) y reserva de asimilados en tallo (líneas segmentadas) esperados para dos genotipos de maíz con baja (líneas negras) y alta (líneas grises) capacidad de reservas de asimilados en el tallo a lo largo de un gradiente de condiciones de golpe de calor durante el llenado de granos.



7.3.4. Re-analizar las bases fisiológicas de la determinación del número de granos por planta que explican el incremento en la tolerancia a estreses abióticos introducidos por el mejoramiento genético.

A nivel mundial, el aumento de rendimiento de los cultivos ha sido atribuido al mejoramiento genético, a cambios en las prácticas agronómicas, y a las interacciones entre estos factores (Evans y Fisher, 1999). En maíz, gran parte del aumento se debió a una mejor captura de recursos (principalmente radiación) producto de una mayor tolerancia a incrementos en la densidad poblacional y persistencia del área foliar durante el llenado de los granos (Tollenaar y Lee, 2002). Este proceso ocurrió gradualmente dado que la planta de maíz es muy sensible a aumentos en la competencia por luz (Andrade et al., 2000). En condiciones de estrés lumínico se establecen jerarquías de plantas con distinto grado de habilidad competitiva para dicho recurso (Daynard y Muldoon, 1983). Plantas con elevada habilidad competitiva (i.e., plantas dominantes) presentan los mayores valores de tasa de crecimiento de planta del *stand* durante el período crítico y consecuentemente mayor fijación de granos (figura 7.3). Por su parte, plantas con escasa habilidad competitiva (i.e., plantas dominadas) presentan los menores valores de tasa de crecimiento y en casos extremos (i.e., plantas con tasa de crecimiento por debajo del umbral mínimo para la fijación de granos) resultan estériles (Maddonni y Otegui, 2004). Los mejoradores obtuvieron ganancias de rendimiento significativas al seleccionar en contra de la esterilidad de plantas

(Troyer, 1996), lo que indirectamente condujo a reducciones en la variabilidad entre plantas del *stand* (i.e., menor jerarquización de plantas; figura 7.3). La variabilidad entre plantas está íntimamente asociada con el rendimiento en grano (Tollenaar y Wu, 1999) y la mayor capacidad de los nuevos híbridos para tolerar condiciones de estrés (Tollenaar, 1989). La mejora genética en la tolerancia a deficiencias hídricas y nitrogenadas también ha sido asociada a reducciones del número de plantas estériles y aumentos del número de granos cosechables (Bolaños y Edmeades, 1993a; Bolaños y Edmeades, 1993b; Lafitte y Edmeades, 1994a).

Trabajos posteriores ampliaron el marco conceptual descrito estudiando las bases fisiológicas de la tolerancia a la alta densidad entre híbridos antiguos y modernos (Echarte et al., 2000; Echarte et al., 2004; Luque et al., 2006). Estos estudios, basados en el análisis de los parámetros que describen la relación entre el número de granos y la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico, determinaron que la mejora genética estuvo principalmente asociada a una mayor fijación de granos por unidad de tasa de crecimiento por planta como consecuencia de aumentos en (i) el nivel de respuesta del número de granos a bajas tasas de crecimiento por planta, (ii) el número máximo de granos capaz de ser establecidos a altas tasas de crecimiento (i.e., reducción de limitantes morfogénicas impuestas por espigas de tamaño pequeño), y (iii) la partición de asimilados hacia la espiga (figura 7.3). En cambio, no existió consenso respecto al umbral mínimo de tasa de crecimiento por planta que permite la fijación de granos (Echarte et al., 2004; Luque et al., 2006). Estudios similares fueron realizados para comprender las bases de la tolerancia a déficits hídrico (Echarte y Tollenaar, 2006) y nitrogenado (D'Andrea et al., 2008).

En el Capítulo 4 se puso en evidencia algunas debilidades que presenta esta aproximación para la detección de diferencias genotípicas. Primero, porque ignora aquellas diferencias de tolerancia asociadas a fallas en eventos reproductivos (i.e., ΔNGP_3). Segundo, porque presenta errores en la valoración de la capacidad potencial de los genotipos para fijar granos [i.e., parámetro $a_{\text{potencial}}$ de la ecuación (4.2)] dado que la relación $\text{NGP-TCP}_{\text{PC}}$ es parametrizada teniendo en cuenta el centro de la distribución de datos en lugar de su límite superior (figura 7.4). Esto indica la necesidad de re-analizar la información existente sobre las bases fisiológicas de la tolerancia a distintos estreses atendiendo a las debilidades impuestas por la aproximación clásica. La identificación a esta escala de rasgos y procesos asociados a mejoras en la tolerancia a estreses abióticos es esencial para orientar a genetistas y biólogos moleculares en la búsqueda de las bases genéticas que controlan la expresión de los rasgos de interés para su posible utilización en el mejoramiento. Dichos conocimientos permitirían mejorar la eficiencia de selección de genotipos y avanzar en la mejora del rendimiento potencial del cultivo.

Figura 7.3. Representación esquemática de los cambios introducidos por el mejoramiento genético (flechas punteadas) en la respuesta del número de granos por planta a variaciones de la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (líneas llenas).

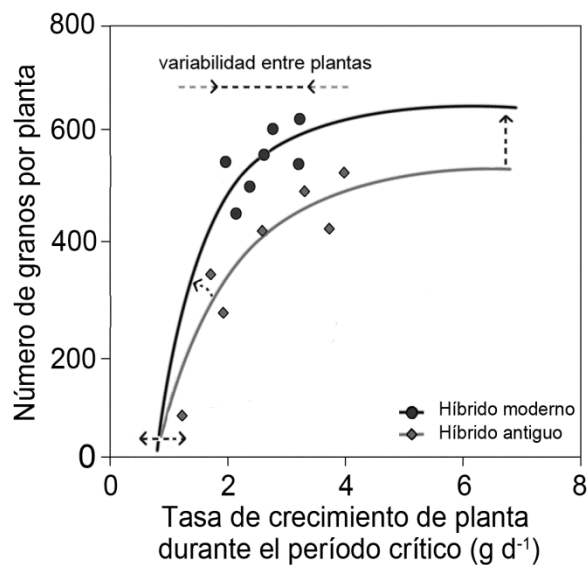
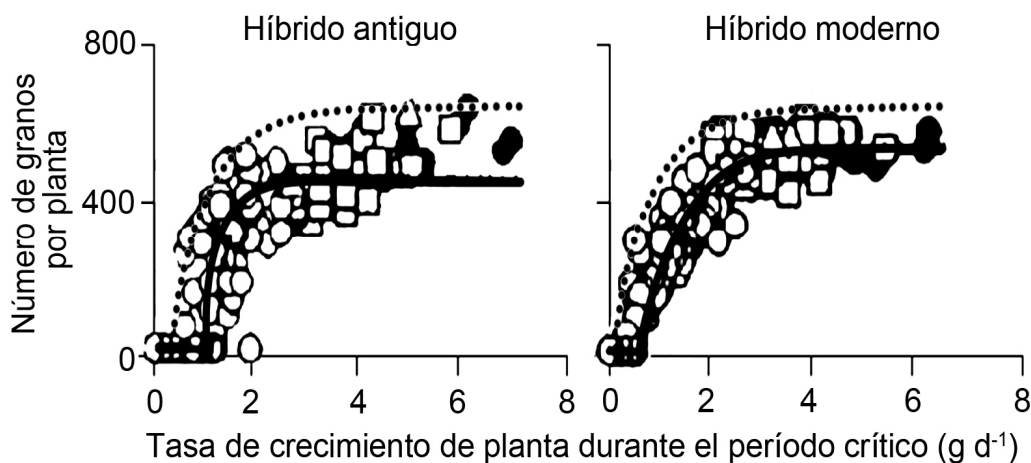


Figura 7.4. Relación entre el número de granos por planta y la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico de dos híbridos de maíz de distinta época de liberación al mercado. La respuesta del número de granos por planta a cambios en tasa de crecimiento de la planta difiere entre genotipos cuando el modelo es ajustado al centro de la distribución de datos (líneas llenas), pero no lo hace cuando se ajusta al límite superior (líneas punteadas). Adaptado de Echarte et al. (2004).



BIBLIOGRAFÍA

- Abadassi, J., Hervé, Y., 2000. Introgression of temperate germplasm to improve an elite tropical maize population. *Euphytica* 113, 125-133.
- Afuakwa, J.J., Crookston, R.K., Jones, R.J., 1984. Effect of temperature and sucrose availability on kernel black layer development in maize. *Crop Sci.* 24, 285-288.
- Al-Khatib, K., Paulsen, G.M., 1999. High-temperature effects on photosynthetic processes in temperate and tropical cereals. *Crop Sci.* 39, 119-125.
- Allakhverdiev, S., Kreslavski, V., Klimov, V., Los, D.A., Carpentier, R., Mohanty, P., 2008. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynth. Res.* 98, 541-550.
- Allison, J.C.S., Daynard, T.B., 1979. Effect of change in time of flowering, induced by altering photoperiod or temperature, on attributes related to yield in maize. *Crop Sci.* 19, 1-4.
- Andrade, F.H., Echarte, L., Rizzalli, R., Della Maggiora, A., Casanovas, M., 2002. Kernel number prediction in maize under nitrogen or water stress. *Crop Sci.* 42, 1173-1179.
- Andrade, F.H., Ferreiro, M.A., 1996. Reproductive growth of maize, sunflower and soybean at different source levels during grain filling. *Field Crops Res.* 48, 155-165.
- Andrade, F.H., Otegui, M.E., Vega, C.R.C., 2000. Intercepted radiation at flowering and kernel number in maize. *Agron. J.* 92, 92-97.
- Andrade, F.H., Uhart, S.A., Cirilo, A., 1993. Temperature affects radiation use efficiency in maize. *Field Crops Res.* 32, 17-25.
- Andrade, F.H., Vega, C., Uhart, S., Cirilo, A., Cantarero, M., Valentinuz, O., 1999. Kernel number determination in maize. *Crop Sci.* 39, 453-459.
- Ashrafa, M., Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59, 206-216.
- Badu-Apraku, B., Hunter, R.B., Tollenaar, M., 1983. Effect of temperature during grain filling on whole plant and grain yield in maize (*Zea mays* L.). *Can. J. Plant Sci.* 63, 357-363.
- Barlow, E., Lee, J., Munns, R., Smart, M., 1980. Water relations of the developing wheat grain. *Funct. Plant Biol.* 7, 519-525.
- Barnabás, B., Jager, K., Feher, A., 2008. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ.* 31, 11-38.
- Bassetti, P., Westgate, M.E., 1993a. Emergence, elongation, and senescence of maize silks. *Crop Sci.* 33, 271-275.

- Bassetti, P., Westgate, M.E., 1993b. Senescence and receptivity of maize silks. *Crop Sci.* 33, 275-278.
- Bassetti, P., Westgate, M.E., 1993c. Water deficit affects receptivity of maize silks. *Crop Sci.* 33, 279-282.
- Bedinger, P.A., Fowler, J.E., 2009. The maize male gametophyte. en: Bennetzen, J.L., Hake, S.C. (Eds.), *Handbook of maize: Its biology*. Springer New York, pp. 57-77.
- Berry, J., Bjorkman, O., 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31, 491-543.
- Blum, A., Sinmena, B., Mayer, J., Golan, G., Shpiler, L., 1994. Stem reserve mobilisation supports wheat-grain filling under heat stress. *Funct. Plant Biol.* 21, 771-781.
- Bolaños, J., Edmeades, G.O., 1993a. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. I. Responses in grain yield, biomass, and radiation utilization. *Field Crops Res.* 31, 233-252.
- Bolaños, J., Edmeades, G.O., 1993b. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. II. Responses in reproductive behavior. *Field Crops Res.* 31, 253-268.
- Bonnett, O.T., 1966. Inflorescences of maize, wheat, rye, barley, and oats: Their initiation and development. *Univ. of Illinois Agric. Exp. Stn. Bull.* 721.
- Borrás, L., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2003a. Leaf senescence in maize hybrids: plant population, row spacing and kernel set effects. *Field Crops Res.* 82, 13-26.
- Borrás, L., Otegui, M.E., 2001. Maize kernel weight response to postflowering source–sink ratio. *Crop Sci.* 49, 1816-1822.
- Borrás, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Res.* 86, 131-146.
- Borrás, L., Westgate, M.E., 2006. Predicting maize kernel sink capacity early in development. *Field Crops Res.* 95, 223-233.
- Borrás, L., Westgate, M.E., Astini, J.P., Echarte, L., 2007. Coupling time to silking with plant growth rate in maize. *Field Crops Res.* 102, 73-85.
- Borrás, L., Westgate, M.E., Astini, J.P., Severini, A.D., 2009. Modeling anthesis to silking in maize using a plant biomass framework. *Crop Sci.* 49, 937-948.
- Borrás, L., Westgate, M.E., Otegui, M.E., 2003b. Control of kernel weight and kernel water relations by post-flowering source-sink ratio in maize. *Ann. Bot.* 91, 857-867.
- Boyer, J.S., 1970. Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Physiol.* 46, 233-235.

- Boyle, M.G., Boyer, J.S., Morgan, P.W., 1991. Stem infusion of liquid culture medium prevents reproductive failure of maize at low water potential. *Crop Sci.* 31, 1246-1252.
- Brooks, A., Jenner, C., Aspinall, D., 1982. Effects of water deficit on endosperm starch granules and on grain physiology of wheat and barley. *Funct. Plant Biol.* 9, 423-436.
- Brougham, R.W., 1957. Effect of intensity of defoliation on regrowth of pasture. *Aust. J. Agric. Res.* 6, 377-387.
- Cabrera, F.J., Baille, A., López, J.C., González-Real, M.M., Pérez-Parra, J., 2009. Effects of cover diffusive properties on the components of greenhouse solar radiation. *Biosyst. Eng.* 103, 344-356.
- Cade, B.S., Terrell, J.W., Schroeder, R.L., 1999. Estimating effects of limiting factors with regression quantiles. *Ecology* 80, 311-323.
- Cairns, J.E., Sonder, K., Zaidi, P.H., Verhulst, N., Mahuku, G., Babu, R., Nair, S.K., Das, B., Govaerts, B., Vinayan, M.T., Rashid, Z., Noor, J.J., Devi, P., San Vicente, F., Prasanna, B.M., 2012. Maize production in a changing climate: Impacts, adaptation, and mitigation strategies. en: Donald, L.S. (Ed.), *Adv. Agron.* Academic Press, pp. 1-58.
- Çakir, R., 2004. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Res.* 89, 1-16.
- Calderini, D.F., Abeledo, L.G., Savin, R., Slafer, G.A., 1999a. Effect of temperature and carpel size during pre-anthesis on potential grain weight in wheat. *J. Agric. Sci.* 132, 453-459.
- Calderini, D.F., Abeledo, L.G., Savin, R., Slafer, G.A., 1999b. Final grain weight in wheat as affected by short periods of high temperature during pre- and post-anthesis under field conditions. *Aust. J. Agric. Res.* 26, 453-458.
- Caldiz, D.O., Sarandón, S.J., 1988. Influence of shading during different periods upon ear development, grain yield and its components in two wheat cultivars. *Agronomie* 8, 327-332.
- Capitanio, R., Gentinetta, E., Motto, M., 1983. Grain weight and its components in maize inbred lines. *Maydica* 28, 365-379.
- Cárcova, J., Andrieu, B., Otegui, M.E., 2003. Silk elongation in maize: Relationship with flower development and pollination. *Crop Sci.* 43, 914-929.
- Cárcova, J., Maddonni, G.A., Ghera, C.M., 1998. Crop water stress index of three maize hybrids grown in soils with different quality. *Field Crops Res.* 55, 165-174.
- Cárcova, J., Otegui, M.E., 2001. Ear temperature and pollination timing effects on maize kernel set. *Crop Sci.* 41, 1809-1815.

- Cárcova, J., Uribeharrea, M., Borrás, L., Otegui, M.E., Westgate, M.E., 2000. Synchronous pollination within and between ears improves kernel set in maize. *Crop Sci.* 40, 1056-1061.
- Cartelle, J., Pedró, A., Savin, R., Slafer, G.A., 2006. Grain weight responses to post-anthesis spikelet-trimming in an old and a modern wheat under Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 25, 365-371.
- Carter, M.W., Poneleit, C.G., 1973. Black layer maturity and filling period variation among inbred lines of corn (*Zea mays* L.). *Crop Sci.* 13, 436-439.
- Cassman, K.G., Dobermann, A., Walters, D.T., 2002. Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management. *Ambio* 31, 131-141.
- Cicchino, M., Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E., 2010a. Heat stress during late vegetative growth of maize: Effects on phenology and assessment of optimum temperature. *Crop Sci.* 50, 1431-1437.
- Cicchino, M., Rattalino Edreira, J.I., Uribeharrea, M., Otegui, M.E., 2010b. Heat stress in field grown maize: Response of physiological determinants of grain yield. *Crop Sci.* 50, 1438-1448.
- Cirilo, A., Andrade, F.H., 1994a. Sowing date and maize productivity: I. Crop growth and dry matter partitioning. *Crop Sci.* 34, 1039-1043.
- Cirilo, A.G., Andrade, F.H., 1994b. Sowing date and maize productivity. II Kernel number determination. *Crop Sci.* 34, 1044-1046.
- Cirilo, A.G., Andrade, F.H., 1996. Sowing date and kernel weight in maize. *Crop Sci.* 36, 325-331.
- Commuri, P.D., Jones, R.J., 1999. Ultrastructural characterization of maize (*Zea mays* L.) kernels exposed to high temperature during endosperm cell division. *Plant Cell Environ.* 22, 375-385.
- Commuri, P.D., Jones, R.J., 2001. High temperatures during endosperm cell division in maize: A genotypic comparison under in vitro and field conditions. *Crop Sci.* 41, 1122-1130.
- Cooper, P., Ho, T.D., 1983. Heat shock proteins in maize. *Plant Physiol.* 71, 215-222.
- Cooper, P., Ho, T.H.D., Hauptmann, R.M., 1984. Tissue specificity of the heat-shock response in maize. *Plant Physiol.* 75, 431-441.
- Cossani, C.M., Slafer, G.A., Savin, R., 2009. Yield and biomass in wheat and barley under a range of conditions in a Mediterranean site. *Field Crops Res.* 112, 205-213.
- Crafts-Brandner, S.J., Salvucci, M.E., 2000. Rubisco activase constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO₂. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 13430-13435.

Crafts-Brandner, S.J., Salvucci, M.E., 2002. Sensitivity of photosynthesis in a C₄ plant, maize, to heat stress. *Plant Physiol.* 129, 1773-1780.

Craufurd, P.Q., Vara Prasad, P.V., Summerfield, R.J., 2002. Dry matter production and rate of change of harvest index at high temperature in peanut. *Crop Sci.* 42, 146-151.

Cheikh, N., Jones, R.J., 1994. Disruption of maize kernel growth and development by heat stress. *Plant Physiol.* 106, 45-51.

Chenu, K., Chapman, S.C., Hammer, G.L., McLean, G., Salah, H.B.H., Tardieu, F., 2008. Short-term responses of leaf growth rate to water deficit scale up to whole-plant and crop levels: an integrated modelling approach in maize. *Plant Cell Environ.* 31, 378-391.

Christensen, L.E., Below, F.E., Hageman, R.H., 1981. The effects of ear removal on senescence and metabolism of maize. *Plant Physiol.* 68, 1180-1185.

D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A., 2008. Kernel number determination differs among maize hybrids in response to nitrogen. *Field Crops Res.* 105, 228-239.

D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G., Eyh rabide, G., 2006. Genotypic variability in morphological and physiological traits among maize inbred lines-nitrogen responses. *Crop Sci.* 46, 1266-1276.

D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A., Eyh rabide, G.H., 2009. Ecophysiological traits in maize hybrids and their parental inbred lines: Phenotyping of responses to contrasting nitrogen supply levels. *Field Crops Res.* 114, 147-158.

Dardanelli, J.L., Collino, D.J., Otegui, M.E., Sadras, V.O., 2003. Bases funcionales para el manejo del agua en los sistemas de producción de los cultivos de grano. en: Satorre, E.H., Benech Arnold, R.L., Slafer, G.A., de la Fuente, E.B., Miralles, D.J. (Eds.), *Producción de granos*. Facultad de Agronomía-Universidad de Buenos Aires, pp. 377-406.

Daynard, T.B., Duncan, W.G., 1969. The black layer and grain maturity in corn. *Crop Sci.* 9, 473-476.

Daynard, T.B., Muldoon, J.F., 1983. Plant-to-plant variability of maize plants grown at different densities. *Can. J. Plant Sci.* 63, 45-59.

Daynard, T.B., Tanner, J.W., Hume, D.J., 1969. Contribution of stalk soluble carbohydrates to grain yield in corn (*Zea mays* L.). *Crop Sci.* 9, 831-834.

Demetriades-Shah, T.H., Fuchs, M., Kanemasu, E.T., Flitcroft, I., 1992. A note of caution concerning the relationship between cumulated intercepted solar radiation and crop growth. *Agric. For. Meteorol.* 58, 193-207.

Denyer, K., Hylton, C.M., Smith, A.M., 1994. The effect of high temperature on starch synthesis and the activity of starch synthase. *Aust. J. Agric. Res.* 21, 783-789

- Dupuis, I., Dumas, C., 1990. Influence of temperature stress on in vitro fertilization and heat shock protein synthesis in maize (*Zea mays* L.) reproductive tissues. *Plant Physiol.* 94, 665-670.
- Duvick, D.N., 2005. The contribution of breeding to yield advance in maize (*Zea mays* L.). *Adv. Agron.* 86, 83-145.
- Duvick, D.N., Cassman, K.G., 1999. Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the north-central United States. *Crop Sci.* 39, 1622-1630.
- Dwyer, L.M., Tollenaar, M., 1989. Genetic improvement in photosynthetic response of hybrid maize cultivars, 1959 to 1988. *Can. J. Plant Sci.* 69, 81-91.
- Earl, H.J., Davis, R.F., 2003. Effect of drought stress on leaf and whole canopy radiation use efficiency and yield of maize. *Agron. J.* 95, 688-696.
- Early, E.B., McIlrath, W.O., Seif, R.D., Hageman, R.H., 1967. Effects of shade applied at different stages of plant development on corn (*Zea mays* L.) production. *Crop Sci.* 7, 151-156.
- Eastin, J.A., 1970. C-14 labeled photosynthate export from fully expanded corn (*Zea mays* L.) leaf blades. *Crop Sci.* 10, 415-418.
- Echarte, L., Andrade, F.H., 2003. Harvest index stability of Argentinean maize hybrids released between 1965 and 1993. *Field Crops Res.* 82, 1-12.
- Echarte, L., Andrade, F.H., Sadras, V.O., Abbate, P.E., 2006. Kernel weight and its response to source manipulations during grain filling in Argentinean maize hybrids released in different decades. *Field Crops Res.* 96, 307-312.
- Echarte, L., Andrade, F.H., Vega, C.R.C., Tollenaar, M., 2004. Kernel number determination in argentinean maize hybrids released between 1965 and 1993. *Crop Sci.* 44, 1654-1661.
- Echarte, L., Luque, S., Andrade, F.H., Sadras, V.O., Cirilo, A., Otegui, M.E., Vega, C.R.C., 2000. Response of maize kernel number to plant density in Argentinean hybrids released between 1965 and 1993. *Field Crops Res.* 68, 1-8.
- Echarte, L., Tollenaar, M., 2006. Kernel set in maize hybrids and their inbred lines exposed to stress. *Crop Sci.* 46, 870-878.
- Edmeades, G.O., Bolaños, J., Chapman, S.C., Lafitte, H.R., Bänziger, M., 1999. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: I. Gains in biomass, grain yield, and harvest index. *Crop Sci.* 39, 1306-1315.
- Edmeades, G.O., Bolaños, J., Hernández, M., Bello, S., 1993. Causes for silk delay in a lowland tropical maize population. *Crop Sci.* 33, 1029-1035.
- Edmeades, G.O., Faurey, N.A., Daynard, T.B., 1979. Influence of plant density on the distribution of ¹⁴C-labelled assimilate in maize at flowering. *Can. J. Plant Sci.* 59, 577-584.

Egharevba, P.N., Horrocks, R.D., Zuber, M.S., 1976. Dry matter accumulation in maize in response to defoliation. *Agron. J.* 68, 40-43.

Egli, D.B., 1988. Plant density and soybean yield. *Crop Sci.* 28, 977-981.

Egli, D.B., Guffy, R.D., Meckel, L.W., Leggett, J.E., 1985. The effect of source-sink alterations on soybean seed growth. *Ann. Bot.* 55, 395-402.

Egli, D.B., TeKrony, D.M., 1997. Species differences in seed water status during seed maturation and germination. *Seed Sci. Res.* 7, 3-11.

Engelen-Eigles, G., Jones, R.J., Phillips, R.L., 2001. DNA endoreduplication in maize endosperm cells is reduced by high temperature during the mitotic phase. *Crop Sci.* 41, 1114-1121.

Evans, L.T., Fisher, R.A., 1999. Yield potential: Its definition, measurement, and significance. *Crop Sci.* 39, 1544-1551.

Fan, T., Xing, T., 2004. Heat shock induces programmed cell death in wheat leaves. *Biol. Plant.* 48, 389-394.

FAO, 2009. El estado de los mercados de productos básicos agrícolas. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia, p. 71.

FAO, 2011a. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo. ¿Cómo afecta la volatilidad de los precios interanuales a las economías nacionales y la seguridad alimentaria? Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.

FAO, 2011b. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia, p. 157.

FAO, 2011c. The state of the world's land and water resources for food and agriculture (SOLAW) - Managing systems at risk. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome and Earthscan, London.

FAO, 2012. FAOSTAT Crops and livestock trade database www.faostat.fao.org.

Feder, M.E., Hofmann, G.E., 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.* 61, 243-282.

Ferris, R., Ellis, R.H., Wheeler, T.R., Hadley, P., 1998. Effect of high temperature stress at anthesis on grain yield and biomass of field-grown crops of wheat. *Ann. Bot.* 82, 631-639.

Fischer, K.S., Palmer, A.F.E., 1984. Tropical maize. en: Goldsworthy, P.R., Fisher, N.M. (Eds.), *The physiology of tropical field crops*. John Wiley & Sons, Chichester, England, pp. 213-248.

Fischer, R., HilleRisLambers, D., 1978. Effect of environment and cultivar on source limitation to grain weight in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 29, 443-458.

Fischer, R.A., 1975. Yield potential of dwarf spring wheat and the effect of shading. *Crop Sci.* 15, 607-613.

Fonseca, A.E., Lizaso, J.I., Westgate, M.E., Grass, L., Dornbos, D.L., Jr., 2004. Simulating potential kernel production in maize hybrid seed fields. *Crop Sci.* 44, 1696-1709.

Foyer, C.H., Noctor, G., 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17, 1866-1875.

French, R., Schultz, J., 1984. Water use efficiency of wheat in a Mediterranean-type environment. I. The relation between yield, water use and climate. *Aust. J. Agric. Res.* 35, 743-764.

Frova, C., Gorla, M.S., 1993. Quantitative expression of maize HSPs: genetic dissection and association with thermotolerance. *Theor. Appl. Genet.* 86, 213-220.

Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2006. Source-sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Res.* 95, 316-326.

Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2007a. Is maize kernel size limited by its capacity to expand?. *Maydica* 52, 431-441.

Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2007b. Kernel water relations and duration of grain filling in maize temperate hybrids. *Field Crops Res.* 101, 1-9.

Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2008. Kernel weight dependence upon plant growth at different grain-filling stages in maize and sorghum. *Aust. J. Agric. Res.* 59, 280-290.

Gifford, R.M., Thorne, J.H., Hitz, W.D., Giaquinta, R.T., 1984. Crop productivity and photoassimilate partitioning. *Science* 225, 801-808.

González, A., Martín, I., Ayerbe, L., 2007. Response of barley genotypes to terminal soil moisture stress: phenology, growth, and yield. *Aust. J. Agric. Res.* 58, 29-37.

Gooding, M.J., Ellis, R.H., Shewry, P.R., Schofield, J.D., 2003. Effects of restricted water availability and increased temperature on the grain filling, drying and quality of winter wheat. *J. Cereal Sci.* 37, 295-309.

Grant, R., Jackson, B., Kiniry, J., Arkin, G., 1989. Water deficit timing effects on yield components in maize. *Agron. J.* 81, 61-65.

Griffing, B., Lindstrom, E.W., 1954. A study of the combining abilities of corn inbreds having varying proportions of corn belt and non-corn belt germ plasm. *Agron. J.* 46, 545-552.

Grogan, C.O., 1956. Detasseling responses in corn. *Agron. J.* 48, 247-249.

Hall, A.J., 1984. Tolerancia a estrés hídrico en maíz: bases fisiológicas y morfológicas. en: AIANBA (Ed.), *Actas del III Congreso Nacional de Maíz*, pp. 11-23.

Hall, A.J., Chimenti, C.A., Trapani, N., Vilella, F., Cohen de Hunau, R., 1984. Yield in water-stressed maize genotypes: association with traits measured in seedlings and in flowering plants. *Field Crops Res.* 9, 41-57.

Hall, A.J., Lemcoff, J.H., Trapani, N., 1981. Water stress before and during flowering in maize and its effects on yield, its components, and their determinants. *Maydica* 26, 19-38.

Hall, A.J., Vilella, F., Trapani, N., Chimenti, C.A., 1982. The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen-shedding and silking in maize. *Field Crops Res.* 5, 349-363.

Hanft, J.M., Jones, R.J., 1986. Kernel abortion in maize: I. Carbohydrate concentration patterns and acid invertase activity of maize kernels induced to abort in vitro. *Plant Physiol.* 81, 503-510.

Hare, P.D., Cress, W.A., Van Staden, J., 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ.* 21, 535-553.

Hay, R.K.M., Gilbert, R.A., 2001. Variation in the harvest index of tropical maize: evaluation of recent evidence from Mexico and Malawi. *Ann. Appl. Biol.* 138, 103-109.

Hay, R.K.M., Porter, J.R., 2006. *The physiology of crop yield*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.

Herrero, M.P., Johnson, R.R., 1980. High temperature stress and pollen viability of maize. *Crop Sci.* 20, 796-800.

Herrero, M.P., Johnson, R.R., 1981. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop Sci.* 21, 105-110.

Hopf, N., Plesofsky-Vig, N., Brambl, R., 1992. The heat shock response of pollen and other tissues of maize. *Plant Mol. Biol.* 19, 623-630.

Horner, H.T., Palmer, R.G., 1995. Mechanisms of genic male sterility. *Crop Sci.* 35, 1527-1535.

Huang, B., Xu, C., 2008. Identification and characterization of proteins associated with plant tolerance to heat stress. *J. Integr. Plant Biol.* 50, 1230-1237.

Hume, D.J., Campbell, D.K., 1972. Accumulation and translocation of soluble solids in corn stalks. *Can. J. Plant Sci.* 52, 363-368.

Hunter, R.B., Daynard, T.B., Hume, D.J., Tanner, J.W., Curtis, J.D., Kannenberg, L.W., 1969. Effect of tassel removal on grain yield of corn (*Zea mays* L.). *Crop Sci.* 9, 405-406.

Idso, S.B., 1982. Non-water-stressed baselines: A key to measuring and interpreting plant water stress. *Agric. Meteorol.* 27, 59-70.

Idso, S.B., Jackson, R.D., Pinter Jr, P.J., Reginato, R.J., Hatfield, J.L., 1981. Normalizing the stress-degree-day parameter for environmental variability. *Agric. Meteorol.* 24, 45-55.

Inze, D., Van Montagu, M., 2001. *Oxidative stress in plants*. Taylor & Francis.

IPCC, 2007. *Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*, Ginebra, Suiza, p. 115.

Jacobs, B.C., Pearson, C.J., 1991. Potential yield of maize, determined by rates of growth and development of ears. *Field Crops Res.* 27, 281-298.

Jacobs, B.C., Pearson, C.J., 1992a. Pre-flowering growth and development of the inflorescences of maize. I. Primordia production and apical dome volume. *J. Exp. Bot.* 43, 557-563.

Jacobs, B.C., Pearson, C.J., 1992b. Pre-flowering growth and development of the Inflorescences of maize. II. Accumulation and partitioning of dry matter and nitrogen by inflorescences. *J. Exp. Bot.* 43, 565-569.

Jandel-Scientific, 1991. *Table Curve V 3.0. User's Manual Version 3.0* AISN Software. Jandel-Scientific, Corte Madera, CA.

Jiang, M., Zhang, J., 2001. Effect of Absciscic Acid on Active Oxygen Species, Antioxidative Defence System and Oxidative Damage in Leaves of Maize Seedlings. *Plant Cell Physiol.* 42, 1265-1273.

Johnson, E.C., Fischer, K.S., Edmeades, G.O., Palmer, A.F.E., 1986. Recurrent selection for reduced plant height in lowland tropical maize. *Crop Sci.* 26, 253-260.

Jones, C.A., Kiniry, J.R., 1986. *CERES-Maize. A simulation model of maize growth and development*. Texas A & M Univ. Press. College Station, Texas.

Jones, R.J., Gengenbach, B.G., Cardwell, V.B., 1981. Temperature effects on in vitro kernel development of maize. *Crop Sci.* 21, 761-766.

Jones, R.J., Quattar, S., Crookston, R.K., 1984. Thermal environment during endosperm cell division and grain filling in maize: Effects on kernel growth and development in vitro. *Crop Sci.* 24, 133-137.

Jones, R.J., Roessler, J., Ouattar, S., 1985. Thermal environment during endosperm cell division in maize: Effects on number of endosperm cells and starch granules. *Crop Sci.* 25, 830-834.

Jones, R.J., Schreiber, B.M.N., Roessler, J.A., 1996. Kernel sink capacity in maize: Genotypic and maternal regulation. *Crop Sci.* 36, 301-306.

Jones, R.J., Simmons, S.R., 1983. Effect of altered source-sink ratio on growth of maize kernels. *Crop Sci.* 23, 129-134.

Jorgensen, J., Weng, J., Ho, T.-h., Nguyen, H., 1992. Genotype-specific heat shock proteins in two maize inbreds. *Plant Cell Rep.* 11, 576-580.

Karim, A., Fracheboud, Y., Stamp, P., 1999. Photosynthetic activity of developing leaves of *Zea mays* is less affected by heat stress than that of developed leaves. *Physiol. Plant* 105, 685-693.

Kiniry, J.R., 1988. Kernel weight increase in response to decreased kernel number in sorghum. *Agron. J.* 80, 221-226.

Kiniry, J.R., Jones, C.A., O'Toole, J.C., Blanchet, R., Cabelguenne, M., Spanel, D.A., 1989. Radiation-use efficiency in biomass accumulation prior to grain-filling for five grain-crop species. *Field Crops Res.* 20, 51-64.

Kiniry, J.R., Otegui, M.E., 2000. Processes affecting maize grain yield potential in temperate conditions. en: Otegui, M.E., Slafer, G.A. (Eds.), *Physiological bases for maize improvement*. Food Products Press, The Haworth Press., pp. 31-46.

Kiniry, J.R., Ritchie, J.T., 1985. Shade-sensitive interval of kernel number of maize. *Agron. J.* 77, 711-715.

Koenker, R., Machado, J.A.F., 1999. Goodness of fit and related inference processes for quantile regression. *J. Am. Stat. Ass.* 94, 1296-1310.

Kreslavski, V., Tatarinzev, N., Shabnova, N., Semenova, G., Kosobryukhov, A., 2008. Characterization of the nature of photosynthetic recovery of wheat seedlings from short-term dark heat exposures and analysis of the mode of acclimation to different light intensities. *Plant Physiol.* 165, 1592-1600.

Lafitte, H.R., Edmeades, G.O., 1994a. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize I. Selection criteria. *Field Crops Res.* 39, 1-14.

Lafitte, H.R., Edmeades, G.O., 1994b. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize II. Grain yield, biomass production, and N accumulation. *Field Crops Res.* 39, 15-25.

Lafitte, H.R., Edmeades, G.O., 1997. Temperature effects on radiation use and biomass partitioning in diverse tropical maize cultivars. *Field Crops Res.* 49, 231-247.

Lemaire, G., Gastal, F., 2009. Quantifying crop responses to nitrogen deficiency and avenues to improve nitrogen use efficiency. en: Sadras, V.O., Calderini, D.F. (Eds.), *Crop Physiology: Applications for genetic improvement and agronomy*. Academic Press, San Diego, pp. 171-211.

Lemcoff, J.H., Loomis, R.S., 1986. Nitrogen influences on yield determination in maize. *Crop Sci.* 26, 1017-1022.

Lindquist, J.L., Arkebauer, T.J., Walters, D.T., Cassman, K.G., Dobermann, A., 2005. Maize radiation use efficiency under optimal growth conditions. *Agron. J.* 97, 72-78.

Lindquist, S., 1986. The heat-shock response. *Annu. Rev. Biochem.* 55, 1151-1191.

Liu, X., Huang, B., 2008. Photosynthetic acclimation to high temperatures associated with heat tolerance in creeping bentgrass. *Plant Physiol.* 165, 1947-1953.

- Lizaso, J., Westgate, M.E., Batchelor, W.D., Fonseca, A.E., 2003. Predicting potential kernel set in maize from simple flowering characteristics. *Crop Sci.* 43, 892–903.
- Lonnquist, J.H., Jugenheimer, R.W., 1943. Factors affecting the success of pollination in corn. *Agron. J.* 35, 923-933.
- Loomis, R.S., Connor, D.J., 1992. *Crop Ecology. Productivity and management in agricultural systems.* Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Luque, S.F., Cirilo, A.G., Otegui, M.E., 2006. Genetic gains in grain yield and related physiological attributes in Argentine maize hybrids. *Field Crops Res.* 95, 383-397.
- Ma, Y.-Z., MacKown, C.T., Van Sanford, D.A., 1990. Sink manipulation in wheat: Compensatory changes in kernel size. *Crop Sci.* 30, 1099-1105.
- Maddonni, G.A., 2012. Analysis of the climatic constraints to maize production in the current agricultural region of Argentina, a probabilistic approach. *Theor. Appl. Clim.* 107, 325–345.
- Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2004. Intra-specific competition in maize: early establishment of hierarchies among plants affects final kernel set. *Field Crops Res.* 85, 1-13.
- Maddonni, G.A., Otegui, M.E., Bonhomme, R., 1998. Grain yield components in maize II. Postsilking growth and kernel weight. *Field Crops Res.* 56, 257-264.
- Maestri, E., Klueva, N., Perrotta, C., Gulli, M., Nguyen, H.T., Marmiroli, N., 2002. Molecular genetics of heat tolerance and heat shock proteins in cereals. *Plant Mol. Biol.* 48, 667-681.
- Magnard, J.-L., Vergne, P., Dumas, C., 1996. Complexity and genetic variability of heat-shock protein expression in isolated maize microspores. *Plant Physiol.* 111, 1085-1096.
- Matsui, T., Omasa, K., 2002. Rice (*Oryza sativa* L.) cultivars tolerant to high temperature at flowering: anther characteristics. *Ann. Bot.* 89, 683-687.
- McCown, R.L., Hammer, G.L., Hargreaves, J.N.G., Holworth, D.P., Freebairn, D.M., 1996. APSIM: a novel software system for model development, model testing and simulation in agricultural systems research. *Agric. Sys.* 50, 255-271.
- Millet, E., Pinthus, M.J., 1984. Effects of removing floral organs, light penetration and physical constraint on the development of wheat grains. *Ann. Bot.* 53, 261-270.
- Mitchell, J.C., Petolino, J.F., 1988. Heat stress effects on isolated reproductive organs of maize. *Plant Physiol.* 133, 625-628.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405-410.

- Mittler, R., 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci.* 11, 15-19.
- Monneveux, P., Sanchez, C., Beck, D., Edmeades, G.O., 2006. Drought tolerance improvement in tropical maize source populations: Evidence of progress. *Crop Sci.* 46, 180-191.
- Monneveux, P., Zaidi, P.H., Sanchez, C., 2005. Population density and low nitrogen affects yield-associated traits in tropical maize. *Crop Sci.* 45, 535-545.
- Monteith, J.L., Unsworth, M.H., 1990. *Principles of environmental physics*. Edward Arnold, London, United Kingdom.
- Montgomery, E.G., 1911. Correlation studies in corn. 24th. Nebraska Agric. Exp. Stn Report, Lincoln, NE.
- Muchow, R.C., 1990. Effect of high temperature on grain-growth in field-grown maize. *Field Crops Res.* 23, 145-158.
- Muchow, R.C., 1994. Effect of nitrogen on yield determination in irrigated maize in tropical and subtropical environments. *Field Crops Res.* 38, 1-13.
- Muchow, R.C., Davis, R., 1988. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid tropical environment II. Radiation interception and biomass accumulation. *Field Crops Res.* 18, 17-30.
- NeSmith, D.S., Ritchie, J.T., 1992a. Effects of soil water-deficits during tassel emergence on development and yield component of maize (*Zea mays*). *Field Crops Res.* 28, 251-256.
- NeSmith, D.S., Ritchie, J.T., 1992b. Maize (*Zea mays* L.) response to a severe soil water-deficit during grain-filling. *Field Crops Res.* 29, 23-35.
- NeSmith, D.S., Ritchie, J.T., 1992c. Short- and long-term responses of corn to a pre-anthesis soil water deficit. *Agron. J.* 84, 107-113.
- Nieto-Sotelo, J., Martínez, L.M., Ponce, G., Cassab, G.I., Alagón, A., Meeley, R.B., Ribaut, J.-M., Yanga, R., 2002. Maize HSP101 plays important roles in both induced and basal thermotolerance and primary root growth. *Plant Cell* 14, 1621-1633.
- Ortiz, R., Taba, S., Tovar, V.H.C., Mezzalama, M., Xu, Y., Yan, J., Crouch, J.H., 2010. Conserving and enhancing maize genetic resources as global public goods—A perspective from CIMMYT. *Crop Sci.* 50, 13-28.
- Otegui, M.E., 1997. Kernel set and flower synchrony within the ear of maize: II. Plant population effects. *Crop Sci.* 37, 448-455.
- Otegui, M.E., Andrade, F.H., 2000. New relationships between light interception, ear growth and kernel set in maize. en: Westgate, M.E., Boote, K.J. (Eds.), *Physiology and modeling of kernel set in maize*. Crop Science Soc. of America and Amer. Soc. of Agronomy Special Publication N° 29, Baltimore, Maryland, USA, pp. 89-102.

Otegui, M.E., Andrade, F.H., Suero, E.E., 1995a. Growth, water use, and kernel abortion of maize subjected to drought at silking. *Field Crops Res.* 40, 87-94.

Otegui, M.E., Bonhomme, R., 1998. Grain yield components in maize I. Ear growth and kernel set. *Field Crops Res.* 56, 247-256.

Otegui, M.E., Melón, S., 1997. Kernel set and flower synchrony within the ear of maize: I. Sowing date effects. *Crop Sci.* 37, 441-447.

Otegui, M.E., Nicolini, M.G., Ruiz, R.A., Dodds, P., 1995b. Sowing date effects on grain yield components for different maize genotypes. *Agron. J.* 87, 29-33.

Ottaviano, E., Sari Gorla, M., Pè, E., Frova, C., 1991. Molecular markers (RFLPs and HSPs) for the genetic dissection of thermotolerance in maize. *Theor. Appl. Genet.* 81, 713-719.

Ouattar, S., Jones, R.J., Crookston, R.K., 1987a. Effect of water deficit during grain filling on the pattern of maize kernel growth and development. *Crop Sci.* 27, 726-730.

Ouattar, S., Jones, R.J., Crookston, R.K., Kajeiou, M., 1987b. Effect of drought on water relations of developing maize kernels. *Crop Sci.* 27, 730-735.

Padilla, J.M., Otegui, M.E., 2005. Co-ordination between leaf initiation and leaf appearance in field-grown maize (*Zea mays*): Genotypic differences in response of rates to temperature. *Ann. Bot.* 96, 997-1007.

Pagano, E., Cela, S., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2007. Intra-specific competition in maize: Ear development, flowering dynamics and kernel set of early-established plant hierarchies. *Field Crops Res.* 102, 198-209.

Pagano, E., Maddonni, G.A., 2007. Intra-specific competition in maize: Early established hierarchies differ in plant growth and biomass partitioning to the ear around silking. *Field Crops Res.* 101, 306-320.

Passioura, J.B., 1996. Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regul.* 20, 79-83.

Pennell, R.I., Lamb, C., 1997. Programmed cell death in plants. *Plant Cell* 9, 1157-1168.

Penning de Vries, F.W.T., Wiltage, J.M., Gremer, R., 1979. Rates of respiration and of increase in structural dry matter in young wheat, ryegrass and maize plants in relation to temperature, to water stress and to their sugar content. *Ann. Bot.* 44, 595-609.

R-Development-Core-Team, 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rattalino Edreira, J.I., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2011. Golpe de calor y productividad en maíz: El ambiente y la genética. *Revista técnica de los productores en siembra directa. AAPRESID*, Rosario, Argentina, pp. 1-7.

Reddy, V.H., Daynard, T.B., 1983. Endosperm characteristics associated with rate of grain filling and kernel size in corn. *Maydica* 28, 339-355.

Reed, A.J., Singletary, G.W., Schussler, J.R., Williamson, D.R., Christy, A.L., 1988. Shading effects on dry matter and nitrogen partitioning, kernel number, and yield of maize. *Crop Sci.* 28, 819-825.

Reynolds, M.P., Nagarajan, S., Razzaque, M.A., Ageeb, O.A.A., 2001. Heat tolerance. en: Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio, J.I., McNab, A. (Eds.), *Application of physiology in wheat breeding*. CIMMYT, Mexico, D.F., pp. 124-135.

Reynolds, M.P., Pierre, C.S., Saad, A.S.I., Vargas, M., Condon, A.G., 2007. Evaluating potential genetic gains in wheat associated with stress-adaptive trait expression in elite genetic resources under drought and heat stress. *Crop Sci.* 47, (S)172-189.

Rincón-Tuexi, J.A., Castro-Nava, S., López-Santillán, J.A., Huerta, A.J., Trejo-López, C., Briones-Encinia, F., 2006. Temperatura alta y estrés hídrico durante la floración en poblaciones de maíz tropical. *PHYTON* 75, 31-40.

Ritchie, J.T., NeSmith, D.S., 1991. Temperature and crop development. en: Hanks, J., Ritchie, J.T. (Eds.), *Modelling plant and soil systems*. American society of agriculture, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI., pp. 5-29.

Ritchie, S.W., Hanway, J.J., 1982. How a plant crop develops. Spec. Rep. 48. Iowa State Univ. of Sci. and Technol., Coop. Ext. Serv., Ames, IA.

Rossini, M.A., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2011. Inter-plant competition for resources in maize crops grown under contrasting nitrogen supply and density: Variability in plant and ear growth. *Field Crops Res.* 121, 373-380.

Ruget, F., Duburcq, J.B., 1983. Développement reproducteur des bourgeons axillaires chez le maïs: stades de différenciation, nombre de fleurs. *Agronomie* 3, 797-808.

Sadras, V.O., Milroy, S.P., 1996. Soil-water thresholds for the responses of leaf expansion and gas exchange: A review. *Field Crops Res.* 47, 253-266.

Saini, H.S., Westgate, M.E., 2000. Reproductive development in grain crops during drought. *Adv. Agron.* 68, 59-96.

Sairam, R.K., Saxena, D.C., 2000. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stress tolerance. *J. Agron. Crop Sci.* 184, 55-61.

Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Saxena, D.C., 2000. Increased antioxidant activity under elevated temperatures: a mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. *Biol. Plant.* 43, 245-251.

Sala, R.G., Andrade, F.H., Westgate, M.E., 2007a. Maize kernel moisture at physiological maturity as affected by the source-sink relationship during grain filling. *Crop Sci.* 47, 711-714.

Sala, R.G., Westgate, M.E., Andrade, F.H., 2007b. Source/sink ratio and the relationship between maximum water content, maximum volume, and final dry weight of maize kernels. *Field Crops Res.* 101, 19-25.

Sayre, J.D., Morris, V.H., Richey, F.D., 1931. The effect of preventing fruiting and of reducing the leaf area on the accumulation of sugars in the corn stem. *J. Am. Soc. Agron.* 23, 751-753.

Scott, W.R., Appleyard, M., Fellowes, G., Kirby, E.J.M., 1983. Effect of genotype and position in the ear on carpel and grain growth and mature grain weight of spring barley. *J. Agric. Sci.* 100, 383-391.

Schnyder, H., Baum, U., 1992. Growth of the grain of wheat (*Triticum aestivum* L.). The relationship between water content and dry matter accumulation. *Eur. J. Agron.* 1, 51-57.

Schooper, J.B., Johnson, R.R., Lambert, R.J., 1982. Maize yield response to increased assimilate supply. *Crop Sci.* 22, 1184-1189.

Schooper, J.B., Lambert, R.J., Vasilas, B.L., 1986. Maize pollen viability and ear receptivity under water and high temperature stress. *Crop Sci.* 26, 1029-1033.

Schooper, J.B., Lambert, R.J., Vasilas, B.L., Westgate, M.E., 1987. Plant factors controlling seed set in maize. The influence of silk, pollen, and ear-leaf water status and tassel heat treatment at pollination. *Plant Physiol.* 83, 121-125.

Schussler, J.R., Westgate, M.E., 1995. Assimilate flux determines kernel set at low water potential in maize. *Crop Sci.* 35, 1074-1080.

Schweizer, L., Yerk-Davis, G.L., Phillips, R.L., Srienc, F., Jones, R.J., 1995. Dynamics of maize endosperm development and DNA endoreduplication. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 7070-7074.

Simmons, S.R., Crookston, R.K., Kurle, J.E., 1982. Growth of spring wheat kernels as influenced by reduced kernel number per spike and defoliation. *Crop Sci.* 22, 983-988.

Sinclair, T.R., Bennett, J.M., Muchow, R.C., 1990. Relative sensitivity of grain yield and biomass accumulation to drought in field-grown maize. *Crop Sci.* 30, 690-693.

Sinclair, T.R., de Wit, C.T., 1975. Comparative analysis of photosynthate and nitrogen requirements in the production of seeds by various crops. *Science* 18, 565-567.

Sinclair, T.R., Muchow, R.C., 1999. Radiation use efficiency. *Adv. Agron.* 65, 215-265.

Sinclair, T.R., Shiraiwa, T., Hammer, G.L., 1992. Variation in crop radiation-use efficiency with increased diffuse radiation. *Crop Sci.* 32, 1281-1284.

Singletary, G.W., Banisadr, R., Keeling, P.L., 1994. Heat stress during grain filling in maize: Effects on carbohydrate storage and metabolism. *Aust. J. Agric. Res.* 21, 829-841.

Sinsawat, V., Leipner, J., Stamp, P., Fracheboud, Y., 2004. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L.) grown at control or high temperature. *Environ. Exp. Bot.* 52, 123-129.

Slafer, G.A., Savin, R., 1994. Source-sink relationships and grain mass at different positions within the spike in wheat. *Field Crops Res.* 37, 39-49.

Slewinski, T.L., 2012. Non-structural carbohydrate partitioning in grass stems: a target to increase yield stability, stress tolerance, and biofuel production. *J. Exp. Bot.* 63, 4647-4670.

Stevens, S.J., Stevens, E.J., Lee, K.W., Flowerday, A.D., Gardner, C.O., 1986. Organogenesis of the staminate and pistillate inflorescences of pop and dent corns: relationship to leaf stages. *Crop Sci.* 26, 712-718.

Tahir, I.S.A., Nakata, N., 2005. Remobilization of nitrogen and carbohydrate from stems of bread wheat in response to heat stress during grain filling. *J. Agron. Crop Sci.* 191, 106-115.

Tebaldi, C., Hayhoe, K., Arblaster, J., Meehl, G., 2006. Going to the extremes: An intercomparison of model-simulated historical and future changes in extreme events. *Clim. Change* 79, 185-211.

Teixeira, E.I., Fischer, G., van Velthuisen, H., Walter, C., Ewert, F., 2013. Global hot-spots of heat stress on agricultural crops due to climate change. *Agric. For. Meteorol.* 170, 206-215.

Tollenaar, M., 1989. Genetic improvement in grain yield of commercial maize hybrids grown in Ontario from 1959 to 1988. *Crop Sci.* 29, 1365-1371.

Tollenaar, M., Daynard, T.B., 1978a. Effect of defoliation on kernel development in maize. *Can. J. Plant Sci.* 58, 207-212.

Tollenaar, M., Daynard, T.B., 1978b. Kernel growth and development at two positions on the ear of maize (*Zea mays*). *Can. J. Plant Sci.* 58, 189-197.

Tollenaar, M., Daynard, T.B., Hunter, R.B., 1979. Effect of temperature on rate of leaf appearance and flowering date in maize. *Crop Sci.* 19, 363-366.

Tollenaar, M., Dwyer, L.M., Stewart, D.W., 1992. Ear and kernel formation in maize hybrids representing three decades of grain yield improvement in Ontario. *Crop Sci.* 32, 432-438.

Tollenaar, M., Lee, E.A., 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Res.* 75, 161-169.

Tollenaar, M., Wu, J., 1999. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. *Crop Sci.* 39, 1597-1604.

Totis de Zeljkovich, L., Rebella, C.M., 1980. Necesidades de agua de un cultivo de maíz en la región de Pergamino. en: AIANBA (Ed.), Actas del II Congreso Nacional de Maíz, pp. 211-219.

- Tranel, D., Pedrdomo, A., Knapp, A., 2008. Tassel development events leading to pollen production: a timeline. *Maydica* 53, 207-216.
- Troyer, A.F., 1996. Breeding widely adapted, popular maize hybrids. *Euphytica* 92, 163-174.
- Uhart, S.A., Andrade, F.H., 1991. Source-sink relationships in maize grown in a cool-temperate area. *Agronomie* 11, 863-875.
- Uhart, S.A., Andrade, F.H., 1995a. Nitrogen and carbon accumulation and remobilization during grain filling in maize under different source/sink ratios. *Crop Sci.* 35, 183-190.
- Uhart, S.A., Andrade, F.H., 1995b. Nitrogen deficiency in maize: I. Effects on crop growth, development, dry matter partitioning, and kernel set. *Crop Sci.* 35, 1376-1383.
- Uribe-larrea, M., Cárcova, J., Borrás, L., Otegui, M.E., 2008. Enhanced kernel set promoted by synchronous pollination determines a tradeoff between kernel number and kernel weight in temperate maize hybrids. *Field Crops Res.* 105, 172-181.
- Uribe-larrea, M., Cárcova, J., Otegui, M.E., Westgate, M.E., 2002. Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Sci.* 42, 1910-1918.
- van Reen, R., Singleton, W.R., 1952. Sucrose content in the stalks of maize inbreds. *Agron. J.* 44, 610-614.
- Vara Prasad, P.V., Craufurd, P.Q., Summerfield, R.J., 1999. Sensitivity of peanut to timing of heat stress during reproductive development. *Crop Sci.* 39, 1352-1357.
- Vara Prasad, P.V., Pisipati, S.R., Mutava, R.N., Tuinstra, M.R., 2008. Sensitivity of grain sorghum to high temperature stress during reproductive development. *Crop Sci.* 48, 1911-1917.
- Vasic, N.J., Ivanovic, M.R., Brkic, I.J., Bekavac, G.F., Zdunic, Z.I., Jambrovic, A.S., 2006. Evaluation of maize hybrids containing different proportion of NC298 tropical germplasm line in their male parents. *Maydica* 51, 79-88.
- Vega, C.R.C., Andrade, F.H., Sadras, V.O., 2001. Reproductive partitioning and seed set efficiency in soybean, sunflower and maize. *Field Crops Res.* 72, 163-175.
- Vega, C.R.C., Sadras, V.O., Andrade, F.H., Uhart, S.A., 2000. Reproductive allometry in soybean, maize and sunflower. *Ann. Bot.* 85, 461-468.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M.R., Khair, A., 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environ. Exp. Bot.* 61, 199-223.
- Wang, X., Cai, J., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Cao, W., 2011. Pre-anthesis high-temperature acclimation alleviates damage to the flag leaf caused by post-anthesis heat stress in wheat. *Plant Physiol.* 168, 585-593.
- Westgate, M.E., 1994. Water status and development of the maize endosperm and embryo during drought. *Crop Sci.* 34, 76-83.

Westgate, M.E., Boyer, J.S., 1985. Reserves and reproductive development at low leaf water potential in maize. *Crop Sci.* 25, 762-769.

Westgate, M.E., Boyer, J.S., 1986a. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Sci.* 26, 951-956.

Westgate, M.E., Boyer, J.S., 1986b. Silk and pollen water potentials in maize. *Crop Sci.* 26, 947-951.

Westgate, M.E., Boyer, J.S., 1986c. Water status of the developing grain of maize. *Agron. J.* 78, 714-719.

Westgate, M.E., Otegui, M.E., Andrade, F.H., 2004. Physiology of the corn plant. en: Smith, C.W., Betran, J., Runge, E.C.A. (Eds.), *Corn: Origin, History, Technology, and Production*. John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey.

Whitehead, F.C., Caton, H.G., Hallauer, A.R., Vasal, S., Cordova, H., 2006. Incorporation of elite subtropical and tropical maize germplasm into elite temperate germplasm. *Maydica* 51, 43-56.

Widstrom, N.W., Bagby, M.O., Palmer, D.M., Black, L.T., Carr, M.E., 1984. Relative stalk sugar yields among maize populations, cultivars, and hybrids. *Crop Sci.* 24, 913-915.

Wilhelm, E.P., Mullen, R.E., Keeling, P.L., Singletary, G.W., 1999. Heat stress during grain filling in maize: Effects on kernel growth and metabolism. *Crop Sci.* 39, 1733-1741.

Yang, J., Sears, R.G., Gill, B.S., Paulsen, G.M., 2002. Genotypic differences in utilization of assimilate sources during maturation of wheat under chronic heat and heat shock stresses. *Euphytica* 125, 179-188.

Yang, Z., van Oosterom, E.J., Jordan, D.R., Hammer, G.L., 2009. Pre-anthesis ovary development determines genotypic differences in potential kernel weight in sorghum. *J. Exp. Bot.* 60, 1399-1408.

Yemm, E.W., Willis, A.J., 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.* 57, 508-514.

Young, T.E., Ling, J., Geisler-Lee, C.J., Tanguay, R.L., Caldwell, C., Gallie, D.R., 2001. Developmental and thermal regulation of the maize heat shock protein, HSP101. *Plant Physiol.* 127, 777-791.

Zinselmeier, C., Westgate, M.E., Schussler, J.R., Jones, R.J., 1995. Low water potential disrupts carbohydrate metabolism in maize (*Zea mays* L.) ovaries. *Plant Physiol.* 107, 385-391.